

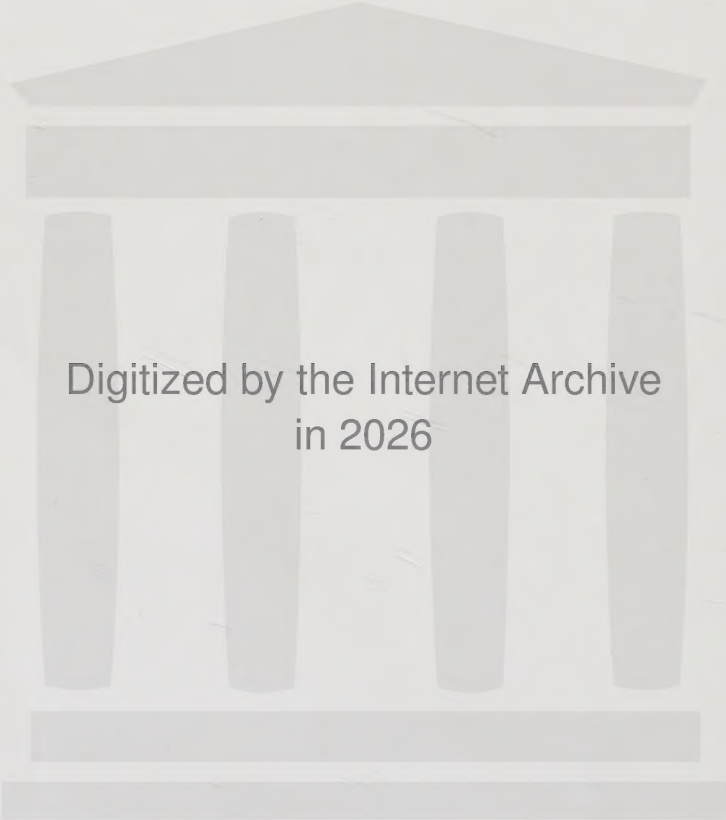
Aus dem Institut für Parasitologie und Parasitäre Krankheiten
der Tiere
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Professor Dr. G. Lämmler

**Untersuchungen zum Wirt-Parasit-Verhältnis
bei der Capillaria hepatica-Infektion
der Mastomys natalensis**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei dem Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Gerhard Bruckmann
Tierarzt aus Berlin

Gießen 1972



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545921_0060

Aus dem Institut für Parasitologie und Parasitäre Krankheiten
der Tiere
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Professor Dr. G. Lämmle

**Untersuchungen zum Wirt-Parasit-Verhältnis
bei der Capillaria hepatica-Infektion
der Mastomys natalensis**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei dem Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Gerhard Bruckmann
Tierarzt aus Berlin

Gießen 1972

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin in Gießen

Dekan: Professor Dr. G. Lämmler

Berichterstatter: Professor Dr. G. Lämmler

Tag der mündlichen Prüfung: 7. Juli 1972



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINLEITUNG	1
B. LITERATUR	3
1. Systematische Stellung von <u>Capillaria hepatica</u> nach SOULSBY, 1968	3
2. Geographische Verbreitung	3
3. Wirtsspektrum	3
4. Entwicklungszyklus	8
5. Experimentelle Infektionen verschiedener Wirte	18
6. Kriterien zur Beurteilung der Ansitzrate	19
7. Letale Dosis	19
8. Relatives Lebergewicht	20
9. Resistenz und Immunität bei Ratte und Maus	20
10. Untersuchungen zur Wirtsreaktion	21
C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	22
I. Material und Methode	22
1. Versuchstiere	22
2. Infektionsmaterial	22
3. Sektion und Auswertung	24
4. Serumgewinnung und Aufbewahrung	24
5. Herstellung von Eiextrakten	25
6. Immunoelektrophorese	26
7. Polyacrylamid-Disc-Elektrophorese	26
8. Statistik	27
9. Anordnung der Tierversuche	27
II. Versuche und Ergebnisse	30
1. Vorversuche zur Freisetzung der Eier	30
2. Vorversuche zur Flotation und Auszählung der Eier	32

	Seite
3. Zerkleinerung des Eimaterials zur anschließenden Extrahierung	32
4. Bestimmung der Absterberate nach unterschiedlichen Infektionsdosen (Versuch I)	33
5. Relative Lebergewichte und Eiproduktion im Verlauf der Infektion (Versuch II)	34
6. Abhängigkeit des relativen Lebergewichts und der Eiproduktion von der Infektionsstärke (Versuch III)	38
7. Abhängigkeit des relativen Lebergewichts und der Eiproduktion vom Alter des Wirtes (Versuch IV)	43
8. Eiproduktion und relative Lebergewichte bei Superinfektionen (Versuch V)	46
9. Extraktuntersuchung mittels der PAA-disc-Elektrophorese	48
10. Immunoelktrophoretische Untersuchungen (Versuche VI und II)	49
D. DISKUSSION	55
E. ZUSAMMENFASSUNG	69
F. LITERATURVERZEICHNIS	71

A. EINLEITUNG

Der Trichocephalide Capillaria hepatica ist ein insbesondere bei Nagetieren vorkommender, weltweit verbreiteter Parasit mit sehr breitem Wirtsspektrum, das auch den Menschen einschließt.

Die bisher vorliegenden Ergebnisse experimenteller Forschungsarbeiten mit diesem Nematoden sind nicht sehr zahlreich. Hinsichtlich des Wirt-Parasit-Verhältnisses betreffen sie hauptsächlich die Entwicklung des Parasiten im Wirt (FÜLLEBORN, 1925; NISHIGORI, 1925; LUTTERMOSER, 1938; WRIGHT, 1961) sowie die pathohistologischen Reaktionen im Gefolge einer Infektion (HÖPPLI, 1925; GUPTA und RANDHAWA, 1960). Untersuchungen unter immunologischen Gesichtspunkten wurden lediglich von LUTTERMOSER (1938) und LEE (1964) bei Ratten und Kaninchen durchgeführt. Die Eigenart des Parasiten, seine besondere Lebensweise und Lokalisation, aufgrund derer einmal ins Leberparenchym abgelegte Eier erst nach dem Tode des Wirtes freiwerden, bieten interessante Möglichkeiten zur Überprüfung immunologischer und pathophysiologischer Reaktionen im Verlauf bzw. in den verschiedenen Phasen einer experimentellen Infektion. Hierzu ist allerdings die quantitative Kontrolle des Infektionserfolges erforderlich, die aber bei den bisher in der Regel verwendeten Versuchstieren Ratte und Maus Schwierigkeiten bereitete.

Von COCHRANE et al. (1957) wurde bereits auf natürliche Infektionen bei der "multimammate rat" Mastomys natalensis mit Capillaria hepatica hingewiesen. Orientierende experimentelle Untersuchungen im hiesigen Institut haben schließlich bestätigt, daß M. natalensis für diesen Parasiten hoch empfänglich ist und bereits relativ niedrige Infektionsdosen patente Infektionen zur Folge haben (LÄMMLER und SCHÜTZE, unveröffentlicht).

Im Rahmen vergleichender experimenteller Untersuchungen über das Wirt-Parasit-Verhältnis bei leberspezifischen Helmintheninfektionen

der Tiere sollten in der vorliegenden Arbeit zunächst die bisher in der Literatur niedergelegten Erkenntnisse und Erfahrungen über die Capillaria hepatica-Infektion der Tiere zusammenfassend dargestellt und als Basis für weitere Forschungsarbeiten einer kritischen Betrachtung unterzogen werden.

Der Aufbau einer standardisierten und vielseitig verwendbaren Capillaria hepatica-Modellinfektion der Mastomys natalensis erforderte weiterhin eine Beschäftigung mit den methodischen Grundlagen sowie die Durchführung experimenteller Untersuchungen zum Studium des Infektionsverlaufes und Erfolges. In weiteren, darauf aufbauenden Experimenten sollte versucht werden, immunologische Reaktionen in der Folge von C. hepatica-Infektionen zu überprüfen und einen Nachweis humoraler Antikörper zu führen.

B. LITERATUR

1. Systematische Stellung von *Capillaria hepatica* (nach SOULSBY, 1968)

Ordnung:	Trichocephalida
Familie:	Trichuridae
Gattung:	Capillaria
Art:	<u>Capillaria hepatica</u> (BANCROFT, 1893)

2. Geographische Verbreitung

Die Hauptverbreitungsgebiete von *Capillaria hepatica* sind nach PAVLOV (1955) (zit. nach SKRJABIN, 1957) Klimazonen mit hoher Feuchtigkeit und hohen Sommertemperaturen. Es handelt sich jedoch bei dem Parasiten um einen Kosmopoliten (vergl. BECK and BEVERLEY-BURTON, 1968; SKRJABIN, 1957) von dem natürliche Infektionen aus allen Erdteilen und den meisten Klimazonen bekannt sind (z.B. Alaska: RAUSCH, 1961; England: MORGAN, 1932; Italien: GHELHARDONI, 1965; Belgisch Kongo: FAIN, 1953).

3. Wirtsspektrum

Das Wirtsspektrum von *C. hepatica* umfaßt nach den bisherigen Erfahrungen vorwiegend Nagetiere (Rodentia). Weiterhin wird von Fleischfressern (Carnivora), Schliefern (Hyracoidea), Paarzechern (Artiodactyla), Insektenfressern (Insectivora) und Primaten, einschließlich des Menschen, als natürlichen Endwirten berichtet.

a) Infektion tierischer Wirte

Detaillierte Angaben über nachgewiesene natürliche Endwirte wurden von PAVLOV (1955) (zit. nach SKRJABIN, 1957) zusammengestellt:

Lagomorpha:

Lepus europaeus (Hase)

Oryctolagus cuniculus (Wildkaninchen)

Rodentia:

Apodemus agrarius (Brandmaus)

Apodemus sylvaticus syn. *Sylvaemus sylvaticus* (Waldmaus)

Arvicola terrestris (Scher- oder Mollmaus)

Castor canadensis (Amerik. Biber)

Castor fiber (Europ. Biber)

Clethrionomys glareolus (Rötel- oder Waldwühlmaus)

Clethrionomys rutilus (Polarrötelmaus)

Cricetulus migratorius (Zwerghamster)

Cynomys ludovicianus (Präriehund)

Marmota monax syn. *Arctomys monax* (Waldmurmeltier)

Mastomys natalensis syn. *Rattus coucha* ugande (Vielstrichige Maus)

Mus musculus (Hausmaus)

Myocastor coypus syn. *Myopotamus coypus* (Nutria oder Biberratte)

Ondatra zibethica (Bisamratte)

Rattus norvegicus (Wanderratte)

Rattus rattus (Hausratte)

Praomys jacksoni (Gtg. Große Afrik. Waldmäuse)

Sigmodon hispidus (Texas-Baumwollratte)

Lemniscomis striatus massaicus (Gestreifte Massai-Grasmaus)

Arvicanthis abyssinicus rubescens (Gtg. Kusu-Grasratte)

Actomys kaiseri medicatus (*Acomys*? = Stachelmaus)

Dasmys incomatus medius (*Dasymys*? = waber rat)

Tatera dichrura (Gtg. Nacktsohlen-Rennmaus)

Otomys tropicalis elongis (Ohrratte)

Sciurus persicus (Pers. Baumhörnchen)

Microtus nivalis (Schnee- oder Alpenwühlmaus)

Carnivora:

Canis canis (Haushund)

Felis domestica (Hauskatze)

Hyracoidea:

Dendrohyrax arboreus adolfi-friederici (Baumschliefer)

Artiodactyla:

Tayassu pecari spiradeus syn. *T. albirostris* (Weißbartpekari)

Primaten:

Antropopithecus troglodytes syn. *Pan troglodytes* (Schimpanse)

Ateles geoffroyi (Geoffroy-Klammeraffe)

Cebus capucinus (Kapuzineraffe)

Als weitere Wirte wurden in der zugänglichen Literatur beschrieben:

Insectivora:

Erinaceus spec. (Igel), SMIT (1960)

Blarina brevicauda (Kurzschwanzspitzmaus), SOLOMON u. HAND-
LEY (1971)

Sorex cinereus syn. *S. caecutiens* (Maskenspitzmaus), SOLOMON
u. HANDLEY (1971)

Sorex fumeus (Gtg. Spitzmäuse), SOLOMON u. HANDLEY (1971)

Sorex unguiculatus (Gtg. Spitzmäuse), CHABAUD u. RAUSCH (1963)

Lagomorpha:

Sylvilagus floridanus (Gtg. Waldkaninchen), WARD (1934) (zit.
nach LAYNE, 1968)

Rodentia:

Bandicota malabarica (Bandicut-Ratte), GUPTA u. RANDHAWA
(1960)

- Cavia pamparum* (Meerschweinchen), Mac DONAGH (1929) (zit.
nach LAYNE, 1968)
- Citellus richardsonii* (Gtg. Ziesel), BROWN u. ROY (1943) (zit.
nach LAYNE, 1968)
- Clethrionomys gapperi* (Nordreitelmaus), FREEMAN u. WRIGHT
(1960)
- Clethrionomys rufocanus* (Graurötelmaus), CHABAUD u. RAUSCH
(1963)
- Geomys bursarius* (Geopracomys? =Stummelschwanz-Ferkelratte),
WEIDMANN (1917) (zit. nach LAYNE,
1968)
- Lemmus sibiricus* (Lemming), RAUSCH (1961) (zit. nach LAYNE,
1968)
- Meriones spec. syn. Gerbillus spec.* (Gtg. Rennmäuse), COCHRANE
(1957)
- Microtus chrotorrhinus* (Wühlmaus spec.), FISCHER (1963) (zit.
nach LAYNE, 1968)
- Microtus pennsylvanicus* (Wiesenwühlmaus), FREEMAN u. WRIGHT
(1960)
- Napaeozapus insignis* (Waldhüpfmaus), FREEMAN u. WRIGHT (1960)
- Neotoma cinerea* (Gtg. Felsenratte), RAUSCH (1961) (zit. nach
LAYNE, 1968)
- Neotoma floridana* (Gtg. Felsenratte), SOLOMON u. HANDLEY (1971)
- Peromyscus gossypinus* (Gtg. Weißfußmäuse), LAYNE (1968)
- Peromyscus leucopus* (Weißfußmaus), SOLOMON u. HANDLEY (1971)
- Peromyscus floridanus* (Florida Hirschmaus), LAYNE u. GRIFFO
(1961)
- Peromyscus maniculatus* (Hirschmaus), WRIGHT (1961)
- Sciurus niger* (Östliches Fuchshörnchen), ALBERT u. Mc QUOWN
(1954)
- Sus scrofa* (Hausschwein), TROMBA (1959)
- Synaptomys cooperi* (Südliche Lemmingmaus), FREEMAN u. WRIGHT
(1960)

Tamiasciurus hudsonicus (Rot- oder Hudsonhörnchen), SOLOMON
u. HANDLEY (1971)

b) Infektionen des Menschen

An Erkrankungen des Menschen durch eine Capillaria hepatica-Infektion sind in der Literatur bisher nur wenige Fälle beschrieben worden. Da die Diagnose intra vitam nur durch Vornahme einer Leberbiopsie gestellt werden kann, wurden die meisten dieser bekannt gewordenen Leberkapillariosen bei Autopsien diagnostiziert.

Der erste Fall einer menschlichen Infektion wurde im Jahre 1924 von DIVE et al. bei einem 20-jährigen britischen Soldaten mit 4-jähriger Dienstzeit in Indien beschrieben, welcher an einer pyämischen Pneumonie verstarb. Bei der Autopsie wurde neben den Lungenbefunden ein Leberabszess mit den typischen C. hepatica-Eiern gefunden.

Seit diesem ersten Bericht weist die Literatur bis 1970 insgesamt weitere 11 gesicherte Fälle auf. Neunmal waren Kinder im Alter von 15 Monaten bis zu 7 Jahren betroffen (Mc. QUOWN, 1950: Louisiana, U.S.A.; OTTO et al., 1954: Maryland, U.S.A.; EWING u. TILDEN, 1956, Hawai, U.S.A.; COCHRANE, 1957: Transvaal, Süd Afrika; WARD u. DENT, 1959; Louisiana, U.S.A.; CALLE, 1961: North Carolina, U.S.A.; KALLICHURUM u. ELSDON-DEW, 1961: Durban, Süd Afrika; GARCIA et al., 1962: Guadalajara, Mexiko; PAMPIGLIONE u. CONCONI, 1970: Brindisi, Italien;).

In den beiden anderen Fällen zeigten sich auch ältere Personen als infiziert. TURHAN et al. (1954) berichteten über eine C. hepatica-Infektion bei einem 60-jährigen Türken (Istanbul) und PIAZZA et al. (1961) über eine infizierte 25-jährige Brasilianerin.

Mitteilungen, nach denen C. hepatica-Eier im menschlichen Stuhl oder Sputum geobachtet werden konnten, werden als Pseudoparasitismus durch zufällige Passagen nicht embryonierter Eier aus von infizierten Tieren stammenden Nahrungsmitteln angesehen (FOSTER u. JOHNSON, 1939; ENGLER u. SANCHEZ, 1950; Mc QUOWN,

1954; LIU et al., 1970).

4. Entwicklungszyklus

a) Freisetzung der Eier und präparasitische Entwicklung

Die nicht embryonierten Eier von C. hepatica werden von den weiblichen Parasiten im Parenchym der befallenen Wirtsleber abgelegt. Hier findet bei einigen Eiern eine Entwicklung bis zum 2-, 4- oder 8-Zellstadium statt (FÜLLEBORN, 1924; WRIGHT, 1961; u. a.).

Eine Freisetzung und Dissemination der nicht embryonierten Eier kann durch Fleischfresser und Vögel geschehen, die die infizierten Wirte als Beutetiere aufnehmen und auf diesem Wege die isolierten, unverdauten Eier mit dem Kot wieder ausscheiden (HALL, 1916; TROISIER und DISCHIENS, 1930; SHORB, 1931; PAVLOV, 1955, zit. nach SKRJABIN, 1957).

Das Freiwerden der Eier durch Verwesung des gestorbenen Wirtes ist zwar möglich, aber als Entwicklungsweg für den Parasiten relativ ungünstig, da eine Embryonierung erst nach Auflösung der bindegewebigen Abkapselung der Eier beginnt (SHORB, 1931; LUTTERMOSER, 1938).

Ebenfalls mit in Betracht zu ziehen ist die Möglichkeit der Freisetzung durch aasfressende Käfer (PAVLOV, 1955, zit. nach SKRJABIN, 1957). Diese Disseminatoren nehmen die Eier mit ihrer Nahrung auf und scheiden sie erst nach 4 bis 15 Tagen wieder aus. Während dieser relativ langen Darmpassage ist eine Weiterentwicklung der Eier bis zum Morulastadium nachgewiesen worden (MOBEDI u. AFRAA, 1971).

Eine nicht unbedeutende Rolle dürfte der Kanibalismus innerhalb infizierter Populationen spielen. HÖPPLI (1925), WEIDMAN (1925), SHORB (1930), FREEMAN u. WRIGHT (1960) und CALLE (1961) erklären hiermit die hohe Infektionsrate innerhalb der untersuchten Nagerpopulationen.

Ein Abgehen der Eier aus einer infizierten Leber über die Gallengänge und den Darm ist zwar beschrieben worden, jedoch ist dieser Vorgang nur bei sehr massivem Befall denkbar (RAILLIET, 1898; NISHIGORI, 1925; FÜLLEBORN, 1925; SUDA, 1928, zit. nach CALLE, 1961; LUTTERMOSER, 1938; FREEMAN u. WRIGHT, 1960). Bei den im Rattenkot gefundenen Eiern diskutiert FÜLLEBORN (1925) eine mögliche Verwechslung mit den ähnlichen Eiern von Trichosomoides crassicauda, welche er bei seinen Versuchstieren nachweisen konnte.

Die in die Außenwelt gelangten C. hepatica-Eier befinden sich im allgemeinen im 1- bis 8-Zellstadium (FÜLLEBORN, 1925; SHORB, 1930; WRIGHT, 1961; u.a.). Zur Erlangung der Infektiosität muß eine Weiterentwicklung zur Larve I stattfinden.

Diese Entwicklung ist weitgehend von den Umweltverhältnissen abhängig und dauert von ca. 4 Wochen bis zu mehreren Monaten. Generell ist eine Embryonierung bei den durch Verdauung freigesetzten Eiern ab 16° C und unterhalb 37° C möglich.

Günstige Voraussetzungen für eine maximale Embryonierungsrate sind bei Temperaturen von 25° C bis 30° C, einer 100 %igen Feuchtigkeit und freiem Luftzutritt gegeben (BANCROFT, 1893; NISHIGORI, 1925; FÜLLEBORN, 1925; SHORB, 1930; LUTTERMOSER, 1938; SHIMATANI, 1960; WRIGHT, 1961; CALLE, 1961; WADDEL, 1969; PAVLOV, 1955, zit. nach SKRJABIN, 1957).

Embryonierungsversuche mit infizierten Leberstücken ohne Freisetzung der Eier wurden von BANCROFT (1893), WEIDMAN (1926) und SHORB (1930) durchgeführt. BANCROFT ermittelte bei Zimmertemperatur erst nach 15 Monaten eine Entwicklung zur Larve I. WEIDMAN fand bei 21° C voll motile Larven nach 5 Monaten. SHORB untersuchte die Embryonierung im Lebergewebe bei 22° C, 30° C und 37,5° C. Er konnte innerhalb eines Untersuchungszeitraumes von 42 Tagen in der Leber keine Entwicklung zur Larve I ermitteln, wohingegen in diesem Zeitraum die durch Verdauung freigesetzten Eier voll embryonierten. Bei 37,5° C wurde zwar eine rasche

Embryonierung innerhalb der ersten 25 Tage der Bebrütung nachgewiesen, anschließend aber degenerierten die Eier innerhalb kurzer Zeit.

WRIGHT (1961) fand bei seinen Embryonierungsversuchen mit mechanisch freigesetzten Eiern bei einer Temperatur von 37°C keine Entwicklung bis zur Larve I, da alle Eier während unterschiedlicher Entwicklungsstadien degenerierten.

Eine Zusammenfassung der Embryonierungsversuche zeigt Tabelle 1.

b) Resistenz gegenüber Umwelteinflüssen

Unterhalb einer relativen Luftfeuchtigkeit von 80 % verringerte sich der Überlebenszeitraum der embryonierenden Eier mit zunehmender Temperatur (SHIMATANI, 1960). Bei der Aufbewahrung embryonierter Eier in 30°C warmem Wasser für 361 Tage konnte eine 60 %ige Überlebensrate festgestellt werden.

Schon RAILLIET (1889) vermutete, daß eine Austrocknung der Eier für wenige Monate zum Verlust der Embryonierungsfähigkeit führt. Bei den von MOMMA (1930) (zit. nach LUTTERMOSER, 1938) durchgeführten Austrocknungsversuchen auf Gaze blieben die nicht embryonierten Eier für 29 Tage bei $27 - 30^{\circ}\text{C}$ entwicklungsfähig, während die Eier unter gleichen, sonst aber nicht näher beschriebenen Versuchsbedingungen nach 31 - 41 Tagen beschädigt und nach 48 Tagen abgestorben waren. Nach LUTTERMOSER (1938) wurden alle C. hepatica-Eier bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 43 % und einer Temperatur von 23°C in einem Zeitraum von nur einer Woche abgetötet. Nahezu anaerobe Bedingungen bei 35°C führten zu einem Verlust der Embryonierungsfähigkeit nach 4 Tagen.

Natürliche Infektionen mit C. hepatica in Klimazonen mit strengen Wintermonaten gaben Anlaß zu Untersuchungen der Widerstandsfähigkeit der Eier gegenüber tiefen Temperaturen. Nach LUTTERMOSER (1938) führt eine durchschnittliche Temperatur von -5°C innerhalb

Tab. 1: Ergebnisse von Embryonierungsversuchen mit Eiern von
C. hepatica aus der Literatur

Temp. in °C	Kultur	Embryonierungs- zeit in Wochen	Gewinnungs- methode	Autor
15	Petrischale +Filterpap.	keine Embryo- nierung	künst. Verd.	SHIMATANI (1961)
15-18	Petrischale	keine Embryo- nierung	mech. Zerk. aus Marder- u. Küken- kot +	PAVLOV (1955)(zit. n. SKRJABIN, 1957)
16-20		8 - 12		NISHIGORI (1925)
20-24	Petrischale	7 - 8	mech. Zerk.	WRIGHT (1961)
22	Petrischale	über 6 Wochen	aus Ratten- kot +	SHORB (1931)
23-28	Petrischale	6 - 6,5	mech. Zerk., aus Marder- u. Küken- kot +	PAVLOV (1955)(zit. n. SKRJABIN, 1957)
27-30		4 - 5	künstl. Verd.	LEE (1964)
28-31	Petrischale	3 - 5	aus Ratten- kot +	LUTTERMOSER (1938)
30	Petrischale	6	aus Ratten- kot +	SHORB (1931)
30	Petrischale	4	aus Katzen- kot +	SHORB (1931)
30	Petrischale +Filterpap.	3 - 3,5	künstl. Verd.	SHIMATANI (1961)
30	Holzkohle	4	künstl. Verd.	WADDEL (1969)
33-34		3 - 4		NISHIGORI (1925)
37	Petrischale	Degeneration	mech. Zerk.	WRIGHT (1961)
37,5	Petrischale	Embryonierung bis 25 Tage, dann Degenera- tion	aus Ratten- kot +	SHORB (1931)

+ nach Verfütterung infizierter Lebern

von 16 Tagen zur Abtötung der Eier. Demgegenüber wurden nach WRIGHT (1961) -15°C für einen Zeitraum von 60 Tagen ohne erheblichen Schaden von den Eiern toleriert, während allerdings -40°C innerhalb eines Tages zur Abtötung führten. Bei Eiern, die eine 750 tägige Aufbewahrungszeit innerhalb des Lebergewebes im Kühlschrank hinter sich hatten, konnte ebenfalls noch eine Embryonierung festgestellt werden.

Die Entwicklungsfähigkeit der Eier von C. hepatica hängt nach LUTERMOSER (1938) vom Alter der Infektionen ab. Gegenüber einer 81 %igen Entwicklungsrate bei Eiern aus 1,5 Monate alten Infektionen wurde lediglich eine nur 10 %ige Entwicklung bei solchen aus 8 Monate alten Infektionen erreicht. Aus den Untersuchungen von FREEMAN u. WRIGHT (1960) geht hervor, daß Eier aus einer 681 Tage zuvor infizierten Maus zu 37 % embryonierten und mit diesem Material erneut Infektionen gesetzt werden konnten.

c) Infektion und Entwicklung im Endwirt

Die natürliche Infektion erfolgt durch eine orale Aufnahme infektiöser C. hepatica-Eier mit kontaminiertem Futter.

Unter mangelhaften hygienischen Bedingungen kann es dabei auch zu Infektionen des Menschen kommen. Hier sind bezeichnenderweise meist Kinder betroffen, die während des Spielens sehr engen Kontakt mit dem Boden haben können oder unter Umständen als sogenannte "earth eater" Erde in den Mund führen (COCHRANE, 1957).

Künstliche Infektionen mit embryoniertem Eimaterial sind mit absteigender Ansitzrate peroral, intraperitoneal und intravenös möglich (SHIMATANI, 1960; LEE, 1964).

Die oral mit den Eiern aufgenommenen infektiösen Larven I schlüpfen im Bereich des Dickdarms. FÜLLEBORN (1925) fand 16,5 Stunden nach der Verfütterung infektiösen Eimaterials an Albinoratten die meisten freien Larven I im Bereich des Caecums. Der erste Larvennachweis in der Leber gelang FÜLLEBORN (1925) 42 Stunden

bzw. NISHIGORI (1925) 52 Stunden nach der Infektion.

Als Migrationsweg in die Leber wird das Portalvenensystem angenommen (FÜLLEBORN, 1925; NISHIGORI, 1925; WRIGHT, 1961; LEE, 1964; u. a.). Als Beweis hierfür führt FÜLLEBORN (1925) das Auffinden von Larven I in den Leberkapillaren an. Einen direkten Weg über das Gallengangsystem schloß er dadurch aus, daß er den Darm der Ratten distal der Mündung des Ductus choledochus ligierte, caudal von der Ligatur Infektionsmaterial in den Darm injizierte und auf diesem Wege erfolgreich Infektionen setzte.

3 bis 4 Tage p. i. beobachteten FÜLLEBORN (1925) und NISHIGORI (1925) ebenfalls Larven I in der Peritonealhöhle. Da NISHIGORI die Larven I in größerer Anzahl in der freien Bauchhöhle fand, diskutiert er einen möglichen Wanderungsweg über die Peritonealhöhle zur Leber, ohne damit aber die portale Migration der Larven auszuschließen. Für diese Wanderungsmöglichkeit sprechen auch die von SHIMATANI (1960) und LEE (1964) erzielten Infektionserfolge durch intraperitoneale Injektion infektiösen Eimaterials, obwohl LEE (1964) nach oraler Infektion keine Larven in der Bauchhöhle nachweisen konnte.

Außer in der Leber und der Peritonealhöhle gelang der Nachweis von Larven I in den Darmlymphknoten, in der Lunge und im Gehirn (FÜLLEBORN, 1925).

Nach NISHIGORI (1925) können die Larven I von der Lunge aus über den großen Kreislauf ebenfalls Gehirn, Nieren und andere Organe erreichen. LUTTERMOSER (1938) erwähnte in diesem Zusammenhang eine Infektionsdauer in der Lunge von maximal 18 Tagen, wobei der Tod des Wirtes durch eine verminöse Pneumonie eintrat.

Nach den Versuchsergebnissen von VOGEL (1930) können die in den Organismus verschleppten Larven durch die ihnen eigene Organotropie über den Blutweg in die Leber gelangen und sich dort bis zum adulten Nematoden entwickeln. Dies gilt auch, wenn 6 - 12 Tage alte Larven in verschiedene Organe implantiert werden.

Das Larvenwachstum innerhalb der Leber wurde von FÜLLEBORN (1925), LUTTERMOSER (1938) und WRIGHT (1961) eingehend studiert, wobei LUTTERMOSER seine Untersuchungen parallel bei Ratte und Maus anstellte.

Die Angaben hierzu sind in der Tabelle 2 zusammengefaßt.

Tab. 2: Längenangaben in mm bzw. Häutungstermine von
C. hepatica aus der Literatur

Tage p.i.	Ratte	Ratte	Maus	Maus	Larve
3	0, 21-0, 25	0, 17	0, 17	0, 14-0, 19	I
4-6	0, 20-0, 40	0, 22	0, 26	0, 16-0, 22	II
8	0, 20-0, 63			0, 27-0, 67	III
10	0, 175-1, 45	1, 10	1, 56		
12		1, 86	1, 79	1, 10-3, 60	IV
18		♂♂25, 00 ♀♀34, 00	♂♂16, 00 ♀♀32, 00		
23		♂♂24, 00 ♀♀53, 00	♂♂21, 00 ♀♀36, 00		
25 (Adulte)	> 15, 000 27, 000	♂♂37, 00 ♀♀78, 00	♂♂50, 00 ♀♀120, 00	52, 00+♀♀	
	FÜLLE- BORN (1925)	LUTTERMOSER (1938)	WRIGHT (1961)		

+ C. hepatica-Weibchen aus der Bauchhöhle

LUTTERMOSER infizierte in diesem Versuch sowohl Ratten als auch Mäuse mit 500 Eiern/Tier.

Bei gleicher Dosierung pro Tier sind nach LUTTERMOSER (1938) keine Unterschiede im Längenwachstum der larvalen Stadien bei der Maus und der Ratte zu verzeichnen. Für das weitere Längenwachstum, das bis mindestens 25 Tage p.i. andauert, wurden jedoch bei

der Maus geringere Größen als bei der Ratte beobachtet.

WRIGHT (1961) fand als einziger bescheidete Larven II bis IV, welche er mit Hilfe des Baermann-Apparates aus infizierten Lebern gewann. Die Häutung zur bescheideten Larve II ermittelte er zwischen dem 3. und 7. Tag p.i.. Bescheidete Larven III konnte er frühestens am 5. Tag p.i. ausfindig machen. Die erste ebenfalls bescheidete Larve IV wurde am 9. Tag p.i. gefunden. Als adult wurden die Parasiten von WRIGHT dann angesehen, wenn sie ihre Scheide abgestreift hatten.

Das Wachstum der Larven ist bei der Maus abhängig von der Höhe der Infektion. 12 Tage alte Parasiten zeigten bei einer Dosis von 500, 1000 bzw. 3000 Eiern pro Tier eine Länge von 1,79 mm, 1,35 mm und 0,65 mm (LUTTERMOSER, 1938). Vergleichende Untersuchungen bei der Ratte liegen nicht vor.

Bei massiven Infektionen der Maus (LUTTERMOSER, 1938) und der Weißfußmaus (WRIGHT, 1961) wurden adulte Exemplare von C. hepatica auch außerhalb der Leber in der freien Bauchhöhle gefunden. Die Parasiten wiesen dort bei der Maus eine weitaus größere Länge auf. LUTTERMOSER (1938) beobachtete einen adulten weiblichen Parasiten in der Bauchhöhle mit einer Gesamtlänge von 120 mm, wohingegen nach seinen Angaben die maximale Länge in der Leber 80 mm betrug. Die Längenmessung von WRIGHT (1961) ergab dagegen nur 52 mm für die Parasiten sowohl aus der Bauchhöhle als auch aus der Leber.

Sowohl die Geschlechtsreife als auch der Beginn der Reproduktivität der Parasiten treten bei kleinen Nagern früher ein als beim Kaninchen und Schwein. Die Unterschiede zwischen Ratte und Maus sind nicht eindeutig. Vergleichende Untersuchungen von LUTTERMOSER (1938) weisen jedoch auf eine frühere Reife bei der Maus hin.

Die Erreichung der Geschlechtsreife und der Beginn der Reproduktivtätigkeit sind in der Tabelle 3 zusammengefaßt.

Tab. 3: Eintritt der Geschlechtsreife und Beginn der Reproduktions-
tätigkeit bei C. hepatica aus der Literatur

Autor		Geschlechtsreife	Auftreten der Eier	Versuchstiere
		Tage p. i.	Tage p. i.	
LUTTERMOSER	(1938)	18	21	Ratte
LEE	(1964)	20	24	Ratte
FÜLLEBORN	(1925)		25-26	Ratte
NISHIGORI	(1925)		27-28	Ratte
SHIMATANI	(1960)		33	Ratte
LUTTERMOSER	(1938)	15	18	Maus
PAVLOV	(1955)		21	Maus
WRIGHT	(1961)	18 ♂♂ 20 ♀♀	21	Maus
MORGAN	(1932)		< 29-31	Kaninchen
TROMBA	(1959)		< 30	Schwein

Die Lebensdauer der Capillarien in der Wirtsleber ist relativ kurz.
Die Angaben sind jedoch nicht einheitlich. Eine Zusammenfassung er-
gibt sich aus der Tabelle 4.

Tab. 4: Lebensdauer von C. hepatica aus der Literatur

Autor		Lebensdauer		Tier
		Tage p. i.		
LUTTERMOSER	(1938)	28	Beginn der Desintegration	Ratte
LEE	(1964)	33	Absterben der männlichen Parasiten	Ratte
		59	Absterben der weiblichen Parasiten	
FÜLLEBORN	(1925)	71	sind die Parasiten encystiert aber noch morphologisch intakt	Ratte
WADDEL	(1969)	62	noch morphologisch intakte Weibchen mit eige- füllten Uteri	Ratte
PAVLOV	(1955)	18-20	Absterben und Resorption der männlichen Parasiten	Maus
		26-28	Beginn des Absterbens der weiblichen Parasiten	
WRIGHT	(1961)	60	Absterben der weiblichen Parasiten	Maus

5. Experimentelle Infektionen verschiedener Wirte

Da der Parasit keine große Wirtsspezifität besitzt, wurden von mehreren Autoren Infektionsversuche bei verschiedenen Wirten durchgeführt.

NISHIGORI (1925) verfütterte embryonierte Eier von C. hepatica an Hunde, Katzen, Kaninchen und Meerschweinchen. Bei der Sektion der Tiere stellte er außer bei der Katze ein Angehen der Infektion fest. Im Kaninchen und Meerschweinchen wurden nach seinen Ergebnissen die Nematoden vor Erreichung der Geschlechtsreife abgekapstelt und abgetötet. Beim Hund entwickelten sich die Capillarien bis zur Geschlechtsreife. FÜLLEBORN (1925) fand dagegen bei dem von ihm infizierten Hund keinerlei Veränderungen in der Leber, während WRIGHT (1930) bei einem Hund eine natürliche Infektion beschreibt. Mit den C. hepatica-Eiern, welche er aus dieser Leber gewann und embryonieren ließ, erzeugte er ebenfalls Infektionen mit Eiansammlungen bei Hundewelpen.

MORGAN (1931) berichtet über natürliche C. hepatica-Infektionen beim Wildkaninchen in England und diskutiert die Ergebnisse von NISHIGORI (1925) und SAITO (1925), nach denen der Parasit bei experimenteller Infektion im Kaninchen keine Geschlechtsreife erlangt. Die beiden von MORGAN (1932) infizierten etwa 5 Wochen alten Kaninchen verendeten am 29. und 31. Tag nach der Infektion. Bei der Sektion fand er voll ausgebildete Eier neben adulten sowie noch nicht geschlechtsreifen Würmern.

LUTTERMOSER (1938) infizierte neben Ratten und Mäusen ebenfalls Meerschweinchen, Kaninchen und einen Hund. In seinen Experimenten gingen die Infektionen zwar bei allen Versuchstieren an, jedoch starben die Parasiten bei Kaninchen, Meerschweinchen und Hund vor Beginn der Reproduktionstätigkeit ab.

Eine experimentelle Infektion gelang TROMBA (1959) bei drei Wochen alten Ferkeln. 30 Tage nach der Infektion wies er neben den

adulten Nematoden auch Eianhäufungen in der Leber der getöteten Tiere nach.

6. Kriterien zur Beurteilung der Ansitzrate

Das Auszählen der adulten Parasiten in der Wirtsleber gelang bei LUTTERMOSER (1938) wegen der Länge und des Verknäulens der haarfeinen Würmer sowohl bei der Ratte als auch bei der Maus nicht. Eine Ermittlung der Gesamteizahl hält LUTTERMOSER (1938) bei der Ratte für eine nicht praktikable Methode, da bei ihr gehäuft Lebernekrosen ohne Eiansammlungen vorkommen. Auf die großen Streuungen bei Ratten deuten auch die im Zusammenhang mit chemotherapeutischen Untersuchungen gewonnenen Werte von WADDEL (1969) hin, der bei 5 mit 4000 Eiern infizierten Tieren nach 62 Tagen 900 000, 606 400, 42 800, 40 100 und 9 260 Eier pro Leber feststellen konnte.

7. Letale Dosis

Nach LUTTERMOSER (1938) sterben von ca. 1 Monat alten Ratten mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 35 Gramm nach einer oralen Infektion von 2 500 bis 5 000 Eiern pro Tier etwa 20 % der Versuchstiere, während Versuchsgruppen von ausgewachsenen Ratten ohne Verluste Dosierungen von 30 000 Eiern pro Tier vertrugen.

Für noch nicht geschlechtsreife Mäuse gibt LUTTERMOSER letale Dosen von nur 500 Eiern pro Tier an, wohingegen in seinen Versuchen bei adulten Mäusen eine Dosierung von 1 000 Eiern pro Tier zu einer 80 %igen Verlustquote innerhalb der 4. Woche führte.

8. Relatives Lebergewicht

Das relative Lebergewicht nach C. hepatica-Infektionen ist nach LUTTERMOSER (1938) von der Infektionsdosis und dem Alter der Infektion abhängig. Gewichtsmessungen bei der Maus ergaben bei nicht infizierten Tieren ein relatives Lebergewicht von ca. 10 %, während das relative Lebergewicht der mit 1 000 Eiern infizierten Mäuse dagegen nach 21 Tagen 13 % und nach 38 Tagen p.i. 40 % betrug. Bei älteren Infektionen konnten die Lebern durch die Bauchdecken palpiert und bei einigen Exemplaren auch ein Ascites festgestellt werden. Die relativen Lebergewichte bei infizierten Ratten lagen bei niedriger Dosierung (500 Eier) bei 3,8 % und subletaler Dosierung (2 500 Eier) bei 9,5 %.

9. Resistenz und Immunität bei Ratte und Maus

Gegenüber der Maus zeigte nach LUTTERMOSER (1938) die Ratte eine größere natürliche Resistenz gegenüber C. hepatica-Infektionen. Ein großer Teil der in die Leber gelangten Parasiten stirbt in der Rattenleber vor Beginn der Reproduktionstätigkeit ab. Auch waren die zellulären Infiltrationen in der Rattenleber stärker ausgeprägt als in der Maus.

Der bestehende Unterschied zwischen juvenilen und adulten Ratten bzw. Mäusen in Bezug auf Tolerierung hoher Infektionsdosen veranlaßte LUTTERMOSER im Rahmen seiner Arbeit, die Altersresistenz bei der Ratte experimentell zu demonstrieren. Er infizierte 4 Gruppen von jeweils 8 Ratten im Alter von 17, 21, 33 und 500 Tagen mit je 500 Eiern pro Tier. Bei der Sektion am 12. Tag p.i. ermittelte er eine durchschnittliche Anzahl oberflächlicher Läsionen von 121, 107, 97 und 48 auf den Rattenlebern. Es zeigte sich somit eine mit dieser Methode gemessene geringere Ansitzrate der Capillarien bei älteren Tieren innerhalb der Präpatenz. Bei den älteren Tieren war auch eine stärkere fibröse Reaktion des Lebergewebes festzustellen.

Zum Nachweis einer möglichen aktiv erworbenen Immunität gegen C. hepatica-Infektionen versuchte LUTTERMOSER (1938) bei der Maus durch vorherige Gaben subletaler Dosen einen Schutz gegen letale Dosen zu erzeugen. Trotz gewisser Anhaltspunkte gelang ihm dieser Nachweis bei der Maus nicht. Zur Aufdeckung einer erworbenen Resistenz bei der Ratte war eine Prüfung mit letalen Dosen durch deren Höhe bei diesem Versuchstier nicht möglich. Mit der Methode des Auszählens der oberflächlichen Leberläsionen war jedoch eine erworbene Immunität gegenüber Superinfektionen nachweisbar, wenn diese später als 28 Tage nach der Erstinfektion erfolgte. Diese erworbene Immunität dauerte mindestens bis zum 56. Tag nach der immunisierenden Infektion an.

10. Untersuchungen zur Wirtsreaktion

Die Mehrzahl der bisher vorliegenden Untersuchungen betreffen die pathologisch-histologischen Veränderungen in der Wirtsleber. Die Hauptreaktion des Wirtsorganismus besteht nach vorheriger Infiltration des den Parasiten umgebenden Gewebes mit Granulozyten, Lymphozyten und den auftretenden rasch wachsenden Nekrosen darin, daß er versucht, sowohl die Parasiten als auch ihre Eier bindegewebig abzukapseln. Als auslösende Reize für diese mesenchymalen Proliferationen und Parenchymuntergänge, welche zum Bilde der parasitären Leberzirrhose führen, werden neben mechanischen Schädigungen vor allem toxisch wirkende Stoffwechselprodukte angenommen (FÜLLEBORN, 1925; HÖPPLI, 1925). In diesen um die Fremdorganismen aufgebauten Bindegewebswällen sind neben Epitheloidzellen, mehrkernigen Riesenzellen zahlreiche eosinophile Granulozyten zu finden. Eine zusammenfassende Darstellung der verschiedenen auf diesem Gebiet bisher publizierten Ergebnisse wird von VOLLERTHUN (1972) gegeben.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. MATERIAL und METHODE

1. Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden konventionell gezüchtete, reinerbig gelbe, rotäugige Mastomys natalensis (SMITH, 1834), Stamm GRA Gießen verwendet.

Die Haltung erfolgte, nach Geschlechtern getrennt, in mit Hobelspänen eingestreuten Makrolon®-Käfigen (Typ II) in im Winter geheizten, aber nicht klimatisierten Räumen.

Das den Mastomys täglich verabreichte Futter wurde im Institut nach folgender Rezeptur gemischt:

Weizen	3 kg	Hühnervollkorn	2 kg
Gerste	3 kg	Garnelen	0,5 kg
Mais	2,5 kg	Sonnenblumen-	
Hafer	9 kg	kerne	0,5 kg

Trinkwasser stand den Tieren zur beliebigen Aufnahme in Trinkflaschen zur Verfügung.

2. Infektionsmaterial

Der Capillaria hepatica-Stamm⁺ wurde aus den U.S.A. importiert und im Institut auf M. natalensis gehalten.

Das Infektionsmaterial für die vorliegenden Versuche wurde aus Lebern von Mastomys natalensis gewonnen, welche etwa 7 Monate zuvor mit diesem Stamm infiziert worden waren.

Die Freisetzung der Eier aus den infizierten Lebern erfolgte nach vorherigem Zerreiben der Lebern im Mörser durch Verdauung in künstlichem Magensaft (MATSUSAKI, 1951) über 24 Stunden auf einem

⁺ Dieser Stamm wurde uns freundlicherweise von Prof. Dr. E. J. L. SOULSBY, University of Pennsylvania, Philadelphia, zur Verfügung gestellt.

Magnetrührer bei 37⁰ C.

Die Verdauungslösung enthält:

Pepsin (1000 E/g)	0,5 g
HCl 1 N	2,5 ml
Aqua dest.	ad 100 ml

Für eine Leber wurden etwa 200 ml der Verdauungslösung verwendet.

Nach dieser Behandlung wurde die Suspension zentrifugiert (6000 g, 4 Min.) und das Sediment 90 Min. in 200 ml (pro Leber) einer NaCl-Trypsin-Lösung nach SADUN et al. (1965) auf einem Magnetrührer im Brutschrank weiter verdaut.

Die Verdauungslösung (SADUN et al., 1965) enthält:

Trypsin	0,4 g
NaCl	2,0 g
Aqua dest.	ad 100 ml

Die Suspension wurde nach vorherigem Sieben erneut zentrifugiert (6000 g, 4 Min.) und das Sediment in einer 17,9 %igen Kochsalzlösung 4 - 6 mal gewaschen. Hierdurch konnte, nach jeweiligem Abgießen des Leberzellen enthaltenden Überstandes und nach Absaugen der oberen, Lebergewebe enthaltenden Schicht des Sediments mit einer Wasserstrahlpumpe, eine saubere Eispension gewonnen werden. Um eventuell noch vorhandene Leberzellen zu zerstören, wurde das Sediment für 30 Minuten in Aqua dest. auf einem Magnetrührer gemischt. Hiernach erfolgte wiederum ein 3 - 4 maliges Waschen in 17,9 %iger NaCl-Lösung und zuletzt ein dreimaliges Auswaschen mit abgestandenem Leitungswasser.

Die so gewonnene Eispension wurde in dünner Schicht in Petrischalen bei täglicher Belüftung und einer Temperatur von 26⁰ C zur Embryonierung angesetzt. Zur Unterdrückung von Bakterien- und Pilzwachstum wurden zu 100 ml Eispension 10 mg Cialit[®] (Farbwerke Hoechst AG) zugefügt.

Nach 5 Wochen war eine maximale Embryonierungsrate von 80 %

der Parasiteneier erreicht.

Zur Infektion wurde das nach der Verdünnungsmethode ausgezählte embryonierte Eimaterial den Versuchstieren mit einer Magensonde appliziert.

3. Sektion und Auswertung

Die Tötung der Versuchstiere erfolgte nach vorheriger Betäubung mit Chloroform durch Dekapitierung. Das Blut wurde zum Zwecke der Serumgewinnung getrennt aufgefangen.

Bei der Sektion wurde das Körper- und Lebergewicht der ausgebluteten Tiere festgestellt. Veränderte Teile der Lebern wurden im Falle des Versuches II in regelmäßigen Abständen nach der Infektion im Trichinenkompressorium gequetscht und unter dem Mikroskop auf eine beginnende Reproduktionstätigkeit der Parasiten untersucht.

Zur Bestimmung der Gesamteizahl wurde zum Lebervolumen eine HCl-Pepsin-Lösung gegeben und bis 200 ml aufgefüllt, die Leber zerkleinert und für 24 Stunden im Erlenmeyer-Kolben auf einem Magnetrührer bei 37° C verdaut. In dieser durch künstliche Verdauung erhaltenen Leberzell-Eisuspension wurde mit Hilfe eines modifizierten Mc. Master-Verfahrens unter Verwendung der Hawksley-Kammer (Fa. Hawksley & Sons, LTD.; Sussex, England) die Eizahl pro Leber bestimmt. Als Flotationsmedium diente eine gesättigte ZnCl_2 -Lösung.

4. Serumgewinnung und Aufbewahrung

Die Serumgewinnung erfolgte bei den zu tötenden Tieren durch getrenntes Auffangen des Blutes in Reagenzgläsern und anschließender Zentrifugation (6000 g, 25 Min.). Die Seren wurden bis zur gemeinsamen Untersuchung bei -20° C aufbewahrt.

Bei den Tieren aus Versuch VI wurde in 14-tägigen Abständen morgens vor der Fütterung ca. 0,3 ml Blut mit Pasteur-Pipetten aus

dem retroorbitalen Venenplexus entnommen. Die nach Zentrifugation (11 000 g, 3,5 Min.) gewonnenen Seren wurden ebenfalls bis zur Untersuchung bei -20°C aufbewahrt.

5. Herstellung von Eiextrakten

Zur Herstellung eines antigenen Extraktes wurden sowohl nicht embryonierte als auch embryonierte Eier von Capillaria hepatica verwendet. Die Gewinnung der Eier erfolgte nach der bereits im Abschnitt 2 beschriebenen Methode. Abweichend von dieser Technik wurden die letzten Waschungen jedoch mit destilliertem Wasser vorgenommen.

Da hierzu die Gewinnung größerer Mengen embryonierten Eimaterials nötig war, wurden zur Embryonierung etwa 25 ml Eisediment in 750 ml Leitungswasser suspendiert und in einem Erlenmeyer-Kolben (1000 ml) bei ständigem Luftdurchfluß und täglicher Aufwirbelung durch einen Magnetrührer zur Embryonierung bei 28°C ange-setzt.

Bei dieser Methode war die maximale Embryonierungsrate nach ca. 8 Wochen erreicht.

Das abzentrifugierte Eimaterial wurde schließlich lyophilisiert und gewogen. Entsprechend den Ergebnissen aus den Vorversuchen wurde das Lyophilisat im Zellhomogenisator Modell MSK (Fa. Braun, Melsungen) unter Zusatz von geringen Mengen Aqua dest. und 25 g Glasperlen mit einem Durchmesser von 0,45 - 0,5 mm bei 4000 U/Min. für 2 x 1 Min. unter CO_2 -Kühlung zerkleinert.

Das Eihomogenisat wurde dann für 24 Stunden im Eiswasserbad auf einem Magnetrührer in Aqua dest. extrahiert. Hierzu wurde 1 g lyophilisiertes Eimaterial mit 30 ml Aqua dest. versetzt. Nach Absieben der Glasperlen wurde der Extrakt mit 25 000 g und bei 4°C 30 Minuten lang zentrifugiert, der Überstand lyophilisiert und in bei Unterdruck zugeschmolzenen Glasampullen aufbewahrt.

6. Immunelektrophorese

Es kam die Mikromethode nach Scheidegger (1955) mit der LKB-Standard-Apparatur zur Anwendung. Der Agargel bestand aus einer 1 %igen Agaroselösung (Behringwerke AG., Marburg/Lahn) in Na-Acetat/Na-DABS-Puffer (0,05 mol/kg Na-Acetat, 0,05 mol/kg Na-Diäthylbarbitursäure, pH 8,6) und Zusatz von 10 mg Cialit[®] auf 100 ml Agargel.

Der Beckendurchmesser betrug 1 mm, die Rinne hatte die Maße 1 x 64 mm und der Abstand vom Beckenmittelpunkt zur Rinne betrug 4,5 mm. Der Elektrodenpuffer hatte die gleiche Zusammensetzung wie der Puffer des Agargels. Die Elektrodenspannung betrug bei 3-stündiger Laufzeit 3 V/cm. Die Diffusionszeit nach Einfüllung der Seren betrug 72 Stunden.

Da die von den Einzeltieren gewonnenen Seren für die Füllung einer Rinne nicht ausreichten, wurden die Seren einer Gruppe zu gleichen Teilen gepoolt und als Mischseren untersucht.

Als Antigen wurde eine Lösung aus 1 mg des lyophilisierten Extraktes in 0,008 ml Aqua destillata verwendet. Die Proteinfärbung erfolgte mit einer 0,5 %igen Amido-Schwarz-Lösung 10 B.

7. Polyacrylamid-Disc-Elektrophorese

Bei Untersuchung der Extrakte aus Eiern von C. hepatica wurde mit geringen Abänderungen die von DAVIS (1964) beschriebene Methode mit Gelsäulen von 5,5 x 0,5 cm verwendet.

Gelzubereitung:

a) Trenngel: (4,5 cm) 7,5 %ige Acrylamidlösung (Eastmann) in Tris-HCl-Puffer (3 mol/kg Tris), pH 8,9, Chemopolymerisation mit Ammoniumpersulfat.

b) Sammelgel: (1,0 cm) 4 %ige Acrylamidlösung in Tris-HCl-Puffer (0,5 mol/kg Tris), pH 6,7, Photopolymerisation mit Riboflavin.

Elektrodenpuffer:

Tris-Glykokoll (0,05 mol/kg Tris, 0,4 mol/kg Glykokoll), pH 5,8, Zusatz von 1 %iger Bromphenolblaulösung zur Markierung der Pufferfront.

Zur Auftrennung der Extrakte wurde Gleichstrom von 4 mA pro Säule und 230 V angelegt. Die Laufzeit betrug 45 - 50 Minuten. Die Proteinfärbung erfolgte mit einer 0,5 %igen Amidoschwarzlösung 10 B.

8. Statistik

Die statistischen Berechnungen erfolgten nach dem parameterfreien X-Test (VAN DER WAERDEN und NIEVERGELT, 1956).

Bei den in den Abbildungen verwendeten Symbolen stehen:

- | | | | | |
|----|---|------------------------|---|------|
| 1. | ◆ | für hoch signifikant | p | 0,01 |
| 2. | ● | für signifikant | p | 0,02 |
| 3. | ○ | für leicht signifikant | p | 0,05 |

9. Anordnung der Tierversuche

Die Einteilung der Gruppen, die einzelnen Fragestellungen, die Infektionsstärken und -zeitpunkte sowie die Sektionstermine sind in Tabelle 6 übersichtlich dargestellt.

Tab. 6: Anordnung der Tierversuche

Versuch Nr.	Gruppe Nr.	Anzahl ♂♂	Anzahl ♀♀	Alter bei Vers. beg. in Wochen	Infektions- dosis	Sektion und Auswertung
I Bestim- mung der Ab- sterbe- rate	I	5	5	5-6	5 E/g KGW	nach Anfall der verendeten Tiere
	II	5	5	5-6	10 E/g KGW	
	III	5	5	5-6	20 E/g KGW	
	IV	5	5	5-6	40 E/g KGW	
	V	5	5	5-6	60 E/g KGW	
	VI	5	5	5-6	80 E/g KGW	
	VII	3	5	5-6	160 E/g KGW	
II Verlauf der In- fektion	I	30	30	5-6	300 E/Tier	Sektionen siehe Abbildung 2
III Dosis- abhängig- keit der Eipro- duktion	I	3	3	5-6	100 E/Tier	29 Tage p. i.
	Ia	3	3	5-6	100 E/Tier	76 Tage p. i.
	II	3	3	5-6	200 E/Tier	29 Tage p. i.
	Ila	3	3	5-6	200 E/Tier	76 Tage p. i.
	III	3	3	5-6	400 E/Tier	29 Tage p. i.
	IIIa	3	3	5-6	400 E/Tier	76 Tage p. i.
	IV	3	3	5-6	800 E/Tier	29 Tage p. i.
	IVa	3	3	5-6	800 E/Tier	76 Tage p. i.
	V	3	3	5-6	1600 E/Tier	29 Tage p. i.
	Va	3	3	5-6	1600 E/Tier	76 Tage p. i.
IV Alters- abhängig- keit der Eipro- duktion	I	4	4	6	300 E/Tier	29 Tage p. i.
	Ia	4	4	6	300 E/Tier	78 Tage p. i.
	II	4	4	9	300 E/Tier	29 Tage p. i.
	Ila	4	4	9	300 E/Tier	78 Tage p. i.
	III	4	4	12	300 E/Tier	29 Tage p. i.
	IIIa	4	4	12	300 E/Tier	78 Tage p. i.
	IV	4	4	15	300 E/Tier	29 Tage p. i.
	IVa	4	4	15	300 E/Tier	78 Tage p. i.
	V	4	4	20	300 E/Tier	29 Tage p. i.
	Va	4	4	20	300 E/Tier	78 Tage p. i.

II. VERSUCHE und ERGEBNISSE

1. Vorversuche zur Freisetzung der Eier

Um ein Maß für die Befallsstärke und Reproduktionsaktivität von C. hepatica in der Wirtsleber zu erarbeiten, sollten die Anzahl der Parasiten und die Anzahl der in der Leber abgelegten Eier festgestellt werden.

Eine quantitative Erfassung der Larven oder der adulten Würmer im Lebergewebe mit Hilfe des Trichinenkompressoriums war nicht möglich, da bei der Länge der Parasiten und ihrer aufgerollten Anordnung in den Nekroseherden eine Untersuchung und Auszählung der Einzelindividuen nicht durchführbar war.

Ein Auszählen der Leberläsionen nach LUTTERMOSER (1938) erwies sich bei der Mastomys natalensis als unbrauchbar, da mit Erreichung der Patenz die Einzelläsionen ineinander übergingen und daher nicht getrennt erfaßbar waren.

Zur Bestimmung der Eizahlen galt es daher eine Methode zu finden, die es ermöglichte, die zahlreich zu untersuchenden Lebern möglichst rasch und auch vollständig zu zerstören, um die in der Leber abgelegten und später stark bindegewebig eingeschlossenen Eier freizusetzen.

- a) Nach Angabe von NISHIGORI (1925) und WADDEL (1969) wurden einige infizierte Lebern in künstlichem Magensaft 48 Stunden bei 37⁰ C im Brutschrank belassen und mehrmals geschüttelt. Diese Verdauung setzte zwar einen Teil der Eier frei, jedoch war der größte Teil der bindegewebig eingeschlossenen Eischmüre nicht zerstört.
- b) Eine an diese Behandlung angeschlossene Verdauung mit einer NaCl-Trypsin-Lösung für 90 Minuten bei 37⁰ C zeigte zwar eine bessere, aber ebenfalls nicht ganz befriedigende Wirkung auf das Bindegewebe.

- c) Eine Leberperfusion mit einer 10 %igen EDTA-Lösung in die Pfortader und einer Einwirkungszeit von 24 Stunden, um das Bindegewebe durch den Ca^{++} -Entzug zu lockern oder zu zerstören, war nicht erfolgreich.
- d) Da das Bindegewebe sich als sehr widerstandsfähig erwies, wurde versucht, dieses durch Einwirkung von HCONH_2 (Formamid) zu zerstören. Bei mikroskopischer Überprüfung konnte bei Zimmertemperatur kein Effekt erzielt werden. Bei Erwärmung der mit Formamid versetzten Probe wurde das Bindegewebe allerdings aufgelöst. Die Resistenz der Eihüllen von C. hepatica war im Vergleich zum Bindegewebe aber nur gering größer, so daß neben einer Auflösung des Bindegewebes auch mit einer nicht oder kaum kontrollierbaren Zerstörung der Eier gerechnet werden mußte.
- e) Einfaches Kochen des zerkleinerten Lebermaterials in einem Erlenmeyer-Kolben stellte ebenfalls keine brauchbare Methode dar, da eine weitgehende Auflockerung des Bindegewebes erst nach mehrstündiger Kochzeit eintrat.
- f) Eine 24-stündige Verdauung - nach Zerkleinerung der infizierten Lebern im Mörser - in künstlichem Magensaft bei 37°C auf einem Magnetrührer erwies sich als brauchbar. Das Bindegewebe wurde durch die Verdauung soweit gelöst und gelockert, daß durch die dauernde mechanische Einwirkung des Rührers praktisch alle bindegewebig eingeschlossenen Eier aus ihrem Zusammenhang befreit wurden. Die so freigesetzten Eier embryonierten zu etwa 80 %.

Nach den Erfahrungen aus diesen Vorversuchen erschien die letzte Methode am brauchbarsten, um eine Aussage über die Anzahl der in die Leber abgelegten Eier machen zu können. Ein weiterer Vorteil bestand darin, daß die Eier hierbei nicht geschädigt wurden und somit zur Herstellung neuen Infektionsmaterials und zur Extraktgewinnung benutzt werden konnten.

2. Vorversuche zur Flotation und Auszählung der Eier

Sowohl in der gesättigten NaCl-Lösung (spez. Dichte 1,2) als auch in einer Mischlösung von NaCl und ZnCl_2 (spez. Dichte 1,37) flo-
tierten die Capillaria hepatica-Eier nicht vollständig. Eine vollstän-
dige und rasche Flotation erfolgte dagegen bei der Verwendung einer
gesättigten ZnCl_2 -Lösung (spez. Dichte 1,7).

Von der nach 24-stündiger Verdauung entstandenen Leberzell-Eisus-
pension wurden analog dem Mc. Master-Verfahren 3 ml auf 45 ml
mit der konzentrierten ZnCl_2 -Lösung aufgefüllt und gut durchmischt.
Von dieser Verdünnungsstufe wurde dann mit Hilfe einer weitlumigen
Pipette eine Hawksley-Kammer gefüllt. Bei dieser Verdünnung ent-
spricht ein in der Kammer gefundenes Ei 50 Eiern pro ml der Ver-
dauungssuspension. Da es sich um 200 ml dieser Suspension handelt,
entspricht ein gefundenes Ei $50 \times 200 = 10\,000$ Eiern pro Leber.

Zur Ermittlung der Eizahl pro Gramm Leber wurde die Gesamtzahl
durch das bei der Sektion ermittelte Lebergewicht dividiert.

3. Zerkleinerung des Eimaterials zur anschließenden Extrahierung

- a) Versuche mit einem Ultra Turrax TP18/2 (Fa. Janke und Kunkel
KG, Stauffen i.Br.) bei 20 000 U/Min. für 2 x 2 Min. waren
nicht erfolgreich. Eine Zerstörung der Eihüllen konnte mikrosko-
pisch nur bei vereinzelt Eiern ermittelt werden.
- b) Durch die Anwendung von Ultraschall (Gerät Sonifer S 125, Fa.
Brandson) 4 x 30 Sek. mit 20 kHz konnten maximal 5 % der
Eihüllen zerstört werden.
- c) Versuche, lyophilisiertes Eimaterial im Mörser zu zerreiben,
führten zum gleichen, nur geringen Prozentsatz der Zerkleine-
rung.
- d) Eine 95 %ige Zerstörungsrate der Eihüllen gelang mit dem Zell-
homogenisator MSK (Fa. Braun, Melsungen). Hierzu wurde lyo-
philisiertes Eimaterial gerade mit soviel Aqua dest. versetzt,

daß eine dünnbreiige Suspension entstand. Unter Zusatz von 25 Gramm Glasperlen eines Durchmessers von 0,45 - 0,5 mm wurde dieses Eimaterial für 2 x 1 Min. bei 4000 U/Min. unter CO₂-Kühlung zerkleinert. Bei den restlichen 5 % der Eier waren entweder die Schalen gesprungen oder die Polkappen zerstört.

4. Bestimmung der Absterberate nach unterschiedlichen Infektionsdosen (Versuch I)

Zur Feststellung der Absterberate einer experimentellen C. hepatica-Infektion wurden die Infektionsdosen, da die Körpergewichte der zur Verfügung stehenden Mastomys natalensis trotz gleichen Alters stark schwankten, für diesen Versuch nicht pro Tier, sondern pro Gramm Körpergewicht berechnet und oral appliziert.

Capillaria hepatica-Infektion der *M. natalensis* (n=10) Absterberate nach Infektion mit:

I. 5	Eier pro Gramm KGW	V. 60	Eier pro Gramm KGW
II. 10	" "	VI. 80	" "
III. 20	" "	VII. 160	" "
IV. 40	" "		

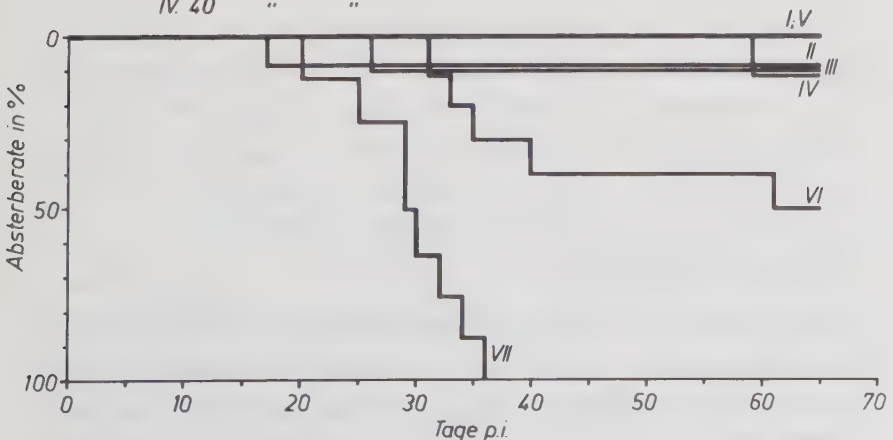


Abb. 1: Absterberate bei verschieden stark mit C. hepatica infizierten M. natalensis.

Die ersten Todesfälle traten nach Erreichung der Patenz bzw. nach Beginn der Eiablage in die Leber ein. In der Gruppe VI, deren Tiere 80 Eier pro Gramm Körpergewicht erhielten, starben nach dem 21. Tag bis zum Versuchsende 4 Monate p.i. die Hälfte der Versuchstiere.

In der Gruppe VII, die mit einer Dosis von 160 Eiern pro Gramm Tier infiziert worden war, starben alle Tiere zwischen dem 21. 36. Tag p.i..

Die durchschnittliche Einzeldosis betrug in der Gruppe VI 2 740 Eier und in der Gruppe VII 5 640 Eier pro Tier.

Die auftretenden Todesfälle waren bei den mit niedrigen Dosen von 10 bis 60 Eiern pro Gramm Körpergewicht infizierten Tieren, wie aus Abb. 1 zu entnehmen ist, relativ gering.

Bei der Sektion der verendeten Tiere konnte in allen Fällen ein hoch- bis höchstgradiger Ikterus festgestellt werden.

Die Leberkapseln zerrissen schon bei geringem Druck; das Leberparenchym war sehr mürbe und brüchig. Brachte man ein abgebrochenes Stück Leber in Wasser, so waren an der Bruchfläche massenhaft die herausragenden Enden der abgerissenen Capillarien zu sehen.

Es gelang nicht, aus solchen Lebern unverletzte Parasiten zu isolieren, da die Würmer zu lang und zu fein sind, um einem gewissen Zug zu widerstehen. Ein aktives Auswandern aus dem Leberparenchym in physiologischer Kochsalzlösung wurde nicht beobachtet.

5. Relative Lebergewichte und Eiproduktion im Verlauf der Infektion (Versuch II)

In diesem Versuch wurden die Sektionszeitpunkte so gewählt, daß im Bereich des nach der Literatur zu erwartenden Legebeginns der Parasitenweibchen täglich und in den Zeiträumen vorher und nachher in Intervallen, wie aus Tabelle 6 zu entnehmen ist, je drei Tiere betäubt, entblutet und ausgewertet wurden (siehe auch Abb. 2 und 3).

Die ersten der zahlreichen Leberläsionen auf der Leberoberfläche konnten am 7. Tag p.i. nur mit der Lupe erkannt werden, eine bevorzugte Lokalisation dieser Veränderungen war nicht zu ermitteln. Im Kompressorium konnten die Parasitenlarven wegen ihrer geringen Größe nur im Quetschsaft nachgewiesen werden.

Am 11. Tag nach der Infektion waren die Nekroseherde bereits mit bloßem Auge deutlich erkennbar, die Parasitenlarven konnten aber ebenfalls nur im Quetschsaft gefunden werden.

Am 15., 17. und 18. Tag p.i. waren die Nekrosen ca. 3 - 6 mm groß geworden, und die ebenfalls inzwischen herangewachsenen Parasiten konnten auch im Lebergewebe ausgemacht werden.

Am 19. Tag p.i. konnten im Bereich der Gonaden einzelner Parasiten eine Anhäufung dunklen Zellmaterials gesehen werden, bei den männlichen Parasiten waren die Kopulationsorgane deutlich zu erkennen.

Am 20. Tag nach der Infektion wurde in diesem Versuch erstmals das Auftreten ausgebildeter Eier im Quetschpräparat beobachtet. Von diesem Tag an wurden die Lebern verdaut und die Eizahlen ermittelt.

Ab 21 Tage p.i. konnten mikroskopisch an der Leberoberfläche neben den sich ausbreitenden Nekroseherden auch Eischnüre festgestellt werden.

Nach dem 22. Tag p.i. hatten die Nekroseherde sich soweit ausgedehnt, daß sie ineinander übergingen und daher nicht mehr voneinander zu unterscheiden waren.

Nach 24 Tagen p.i. waren die Leberoberflächen fast einheitlich mit Eischnüren durchzogen und die ursprünglichen Leberläsionen nicht mehr erkennbar.

Eine völlige Durchsetzung der Lebern mit Eischnüren war am 30. Tag p.i. erreicht.

Tab. 7: Mittelwerte und Standardabweichungen der relativen Lebergewichte, der Gesamteizahlen/Leber und der Eizahlen/ g Leber im Verlauf der Infektion.

Tage p. i.		20	21	22	23	24
rel. Lebergew.	$\bar{x}$	8,89	7,53	8,86	9,68	12,23
	s	1,07	0,99	0,2	0,97	1,62
Gesamteizahl	$\bar{x}$	0,106	0,213	1,320	3,353	6,043
	s	0,035	0,037	0,571	0,230	0,754
Eizahl/g Leber	$\bar{x}$	0,026	0,060	0,301	0,878	1,122
	s	0,006	0,022	0,135	0,268	0,346

Tage p. i.		28	30	35	39	50
rel. Lebergew.	$\bar{x}$	12,91	14,46	18,82	18,34	21,06
	s	1,94	4,17	3,45	1,31	1,82
Gesamteizahl	$\bar{x}$	18,196	23,470	36,560	38,643	70,420
	s	2,235	5,300	15,058	10,523	30,413
Eizahl/g Leber	$\bar{x}$	2,800	3,475	4,142	5,036	5,370
	s	0,477	0,416	1,295	0,959	1,257

Tage p. i.		60	70	80	91
rel. Lebergew.	$\bar{x}$	21,27	18,15	14,5	14,22
	s	1,46	2,22	1,94	2,51
Gesamteizahl	$\bar{x}$	69,280	52,000	53,653	33,413
	s	29,459	33,927	2,000	17,597
Eizahl/g Leber	$\bar{x}$	5,847	4,389	6,418	4,882
	s	1,482	2,108	0,644	3,425

(Angaben der relativen Lebergewichte in % und der Eizahlen in Millionen)

Mill. Eier pro Gramm Leber

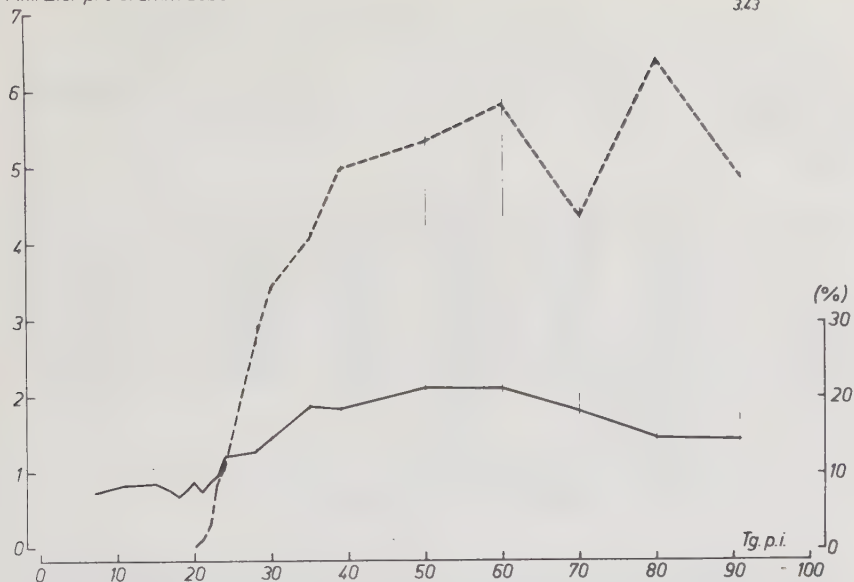


Abb. 2: Anzahl *C. hepatica*-Eier/g Leber (----) und rel. Lebergewichte (—) bei *M. natalensis* (Infektion: 300 Eier/Tier)

Eier pro Leber

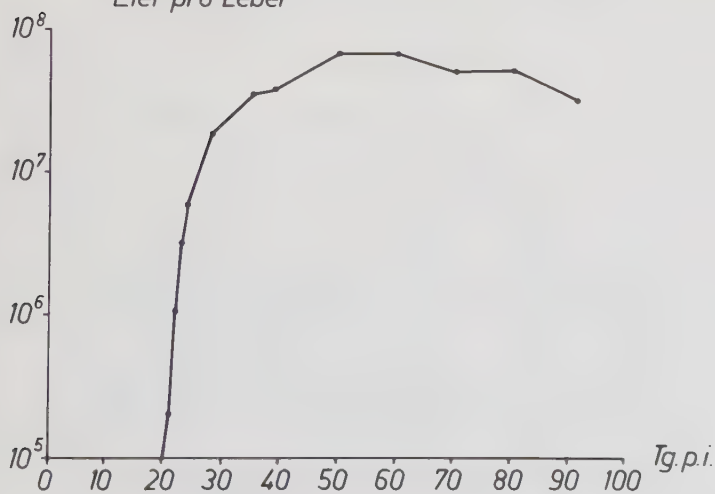


Abb. 3: Anzahl *C. hepatica*-Eier/Leber bei *M. natalensis* (Infektion: 300 Eier/Tier)

Noch 70 Tage p.i. konnten im Leberparenchym adulte Capillarien mit dem Trichinenkompressorium festgestellt werden. Eine aktive Bewegung der fadenförmigen Würmer zwischen dem stark zirrhotischen Lebermaterial war aber zu diesem Zeitpunkt nicht mehr erkennbar.

Das Ansteigen des relativen Lebergewichts und der Eizahlen pro Gramm Leber sind in der Abb. 2 dargestellt. Hierbei ist eine kontinuierliche Zunahme beider Werte vom 20. bis zum 50. Tag p.i. festzustellen. Nach dem 50. Tag p.i. beginnt das relative Lebergewicht leicht abzusinken, wobei aber die Eizahlen pro Gramm Leber relativ konstant bleiben.

Die Zunahme der Gesamteizahlen pro Leber im Verlauf der Infektion ist in der Abb. 3 logarithmisch dargestellt.

6. Abhängigkeit des relativen Lebergewichts und der Eiproduktion von der Infektionsstärke (Versuch III)

Zum ersten Sektionstermin am 29. Tag p.i. war das relative Lebergewicht in der Gruppe I (100 Eier pro Tier) am niedrigsten und in der Gruppe V (1600 Eier pro Tier) am höchsten (Abb. 4).

Beim statistischen Vergleich der Gruppe I gegenüber der Gruppe II (200 Eier pro Tier) war kein Unterschied zu verzeichnen, ein signifikanter Unterschied bestand jedoch zwischen den Werten der Gruppe I gegenüber denen der Gruppe IV (800 Eier pro Tier), und hoch signifikante Unterschiede ergaben sich zwischen den relativen Lebergewichten der Gruppe I gegenüber jenen der Gruppen III und V (400 und 1600 Eier pro Tier).

Die relativen Lebergewichte der Gruppe II unterschieden sich hoch signifikant von denen der Gruppen III, IV und V.

Die Werte der Gruppe III unterschieden sich hoch signifikant von denen der Gruppe V.

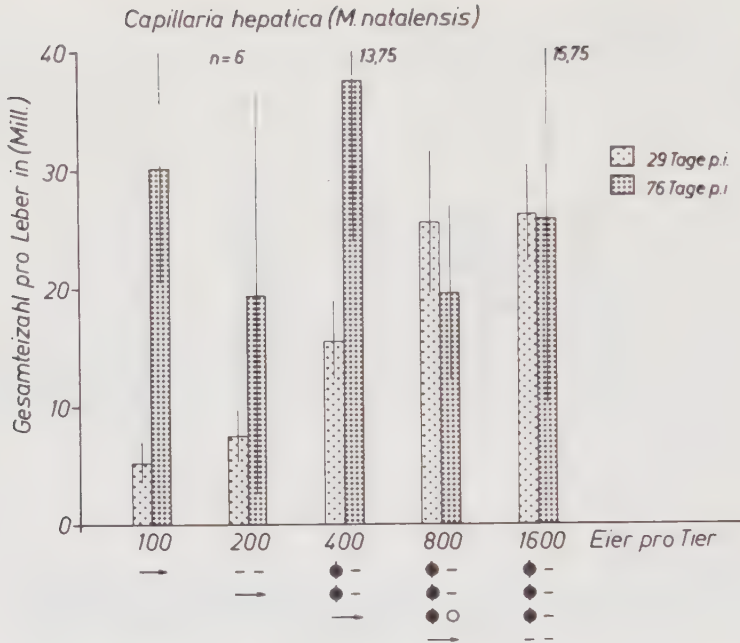


Abb. 6: Anzahl *C. hepatica*-Eier pro Leber bei mit unterschiedlicher Anzahl Eier infizierten *M. natalensis*.

Bei den Eizahlen pro Gramm Leber (Abb. 5) war zum ersten Sektions-termin ebenfalls ein Ansteigen mit zunehmender Infektionsdosis zu er-mitteln.

Hoch signifikante Unterschiede ergaben sich beim Vergleich der Ei-zahlen der Gruppe I gegenüber denen der Gruppe III, IV und V. Die Zahlen der Gruppe II unterschieden sich leicht signifikant von denen der Gruppe III und hoch signifikant von denen der Gruppen IV und V. Beim Vergleich der Werte der Gruppe III gegenüber denen der Grup-pen IV und V war zwischen den Gruppen III und IV ein signifikanter und gegenüber der Gruppe V ein leicht signifikanter Unterschied fest-zustellen. Zwischen den Werten der Gruppe IV und V war kein sta-tistischer Unterschied nachzuweisen.

Tab. 8: Mittelwerte und Standardabweichungen zu Versuch III

Gruppe		I	II	III	IV	V
rel. Lebergew.	$\bar{x}$	7,10	7,48	9,88	10,31	12,88
29 Tage p.i.	s	1,28	1,16	1,17	1,53	1,30
	$\bar{x}$	12,56	12,12	15,06	12,45	16,20
76 Tage p.i.	s	2,22	2,14	1,91	3,28	2,69
Eizahl/g Leber	$\bar{x}$	1,384	2,041	2,938	4,991	4,092
29 Tage p.i.	s	0,389	0,512	0,687	1,035	0,858
	$\bar{x}$	3,177	2,323	3,268	2,122	2,121
76 Tage p.i.	s	0,534	1,398	0,359	0,692	0,843
Gesamteizahl	$\bar{x}$	5,340	7,572	15,040	25,472	26,146
29 Tage p.i.	s	9,654	2,200	3,360	0,604	4,108
	$\bar{x}$	30,360	21,300	37,820	19,520	25,890
76 Tage p.i.	s	9,654	17,023	13,746	7,397	15,890

(Angaben der relativen Lebergewichte in % und der Eizahlen in Millionen)

Beim Vergleich der Gesamteizahlen pro Leber am 29. Tag p.i. (Abb. 6) war ebenfalls ein Ansteigen der Mittelwerte mit zunehmender Infektionsstärke zu verzeichnen. Im statistischen Vergleich waren hoch signifikante Unterschiede zwischen den Gesamteizahlen der Gruppe I gegenüber denen der Gruppen III, IV und V nachzuweisen. Die Zahlen der Gruppe II unterschieden sich hoch signifikant von denen der Gruppen III, IV und V. Ebenfalls hoch signifikant unterschieden sich die Werte der Gruppe III von denen der Gruppen IV und V.

Zwischen den Eizahlen der Gruppen IV und V war kein statistischer Unterschied vorhanden.

Zum zweiten Sektionstermin am 76. Tag p.i. wurden bei den Gruppen Ia, IIa, IIIa, IV- und Va die gleichen Untersuchungen wie am 29. Tag p.i. angestellt. Beim Vergleich der relativen Lebergewichte ergaben sich leicht signifikante Unterschiede zwischen den Werten der Gruppe Ia und denen der Gruppe Va, ebenfalls leicht signifikant unterschieden sich die Werte der Gruppen IIa und IIIa. Die relativen Lebergewichte der Gruppe IIa unterschieden sich signifikant von denen der Gruppe Va. Ein ebenfalls nur leicht signifikanter Unterschied trat zwischen den Werten der Gruppen IVa und Va auf.

Bei der statistischen Gegenüberstellung der Eizahlen pro Gramm Leber waren nur leichte Signifikanzen zu ermitteln. Die Gruppe Ia lag mit ihren Werten leicht signifikant über denen der Gruppen IVa und Va. Die Werte der Gruppe IIIa lagen ebenfalls leicht signifikant über denen der Gruppen IVa und Va.

Beim rechnerischen Vergleich der Gesamteizahlen pro Leber nach 76 Tagen p.i. lag die Gruppe IIIa mit ihren Werten leicht signifikant über denen der Gruppe IVa.

Ein Tier aus der Gruppe IVa, welches mit 800 embryonierten Capillaria hepatica-Eiern infiziert worden war, zeigte schon einige Wochen vor der Sektion eine ständige Umfangsvermehrung des Abdomens. Bei der Sektion flossen nach der Eröffnung der Bauchhöhle etwa 20 ml einer rotbraunen Flüssigkeit ab.

Bei den Versuchstieren der Gruppe Va (1600 Eier pro Tier) waren die Lebern so stark mit Capillarien befallen, daß abgekapselte Parasiten an der Leberoberfläche und am Gekröse klebten. Bei mikroskopischer Betrachtung konnten in diesem zähkrümeligen Material neben den adulten Parasiten auch voll ausgebildete Parasiteneier ermittelt werden.

7. Abhängigkeit des relativen Lebergewichts und der Eiproduktion vom Alter des Wirtes (Versuch IV)

Die Mittelwerte der relativen Lebergewichte, der Eizahlen pro Gramm Leber und die Gesamteizahlen sind in der Tabelle 9 zusammengefaßt.

Tab. 9: Mittelwerte und Standardabweichungen zum Versuch IV

Gruppe		I	II	III	IV	V
<u>rel. Lebergew.</u>						
29 Tage p.i.	$\bar{x}$	12,71	13,59	11,21	9,10	9,04
	s	2,11	1,69	2,57	1,44	1,47
78 Tage p.i.	$\bar{x}$	14,37	16,14	14,89	14,62	14,59
	s	2,55	2,37	3,90	2,96	3,18
<u>Eizahl/g Leber</u>						
29 Tage p.i.	$\bar{x}$	2,467	1,805	1,977	2,115	2,131
	s	0,365	0,354	0,972	0,825	0,683
78 Tage p.i.	$\bar{x}$	4,637	4,438	5,066	6,447	4,731
	s	2,342	1,193	1,859	0,912	1,448
<u>Gesamteizahl</u>						
29 Tage p.i.	$\bar{x}$	14,911	11,260	12,760	11,900	11,816
	s	3,951	2,228	5,268	3,522	4,183
78 Tage p.i.	$\bar{x}$	39,725	43,744	55,347	69,800	58,460
	s	21,425	17,476	19,432	18,843	25,422

(Angaben der relativen Lebergewichte in % und der Eizahlen in Millionen)

Zum ersten Sektionstermin am 29. Tag p.i. gelangten die Gruppen I, II, III, IV und V (Alter der Tiere bei Versuchsbeginn 6, 9, 12, 15 und 20 Wochen) zur Auswertung.

Ein statistisch hoch signifikanter Unterschied konnte zu diesem Zeitpunkt nur bei den relativen Lebergewichten zwischen den Tieren der Gruppe I (6 Wochen) gegenüber den Gruppen IV und V (15 und 20 Wochen) und zwischen den Tieren der Gruppe II (9 Wochen) gegenüber den Gruppen IV und V festgestellt werden (vergl. Abb. 7).

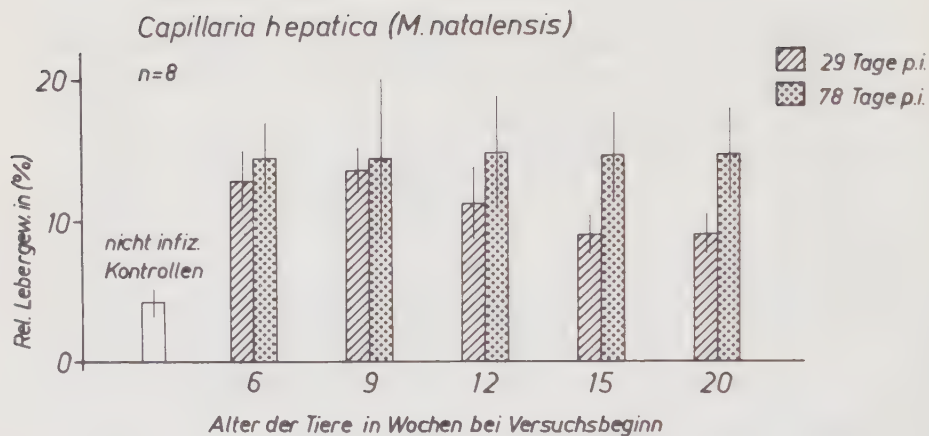


Abb. 7: Relative Lebergewichte von zum Zeitpunkt der Infektion verschieden alten *M. natalensis* nach einer Infektion mit 300 Eiern von *C. hepatica* pro Tier.

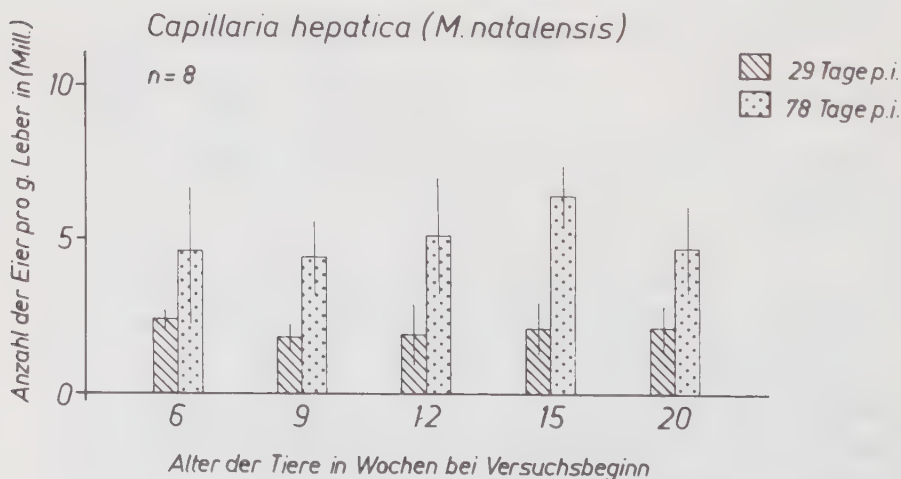


Abb. 8: Anzahl *C. hepatica*-Eier/g Leber bei zum Zeitpunkt der Infektion verschieden alten *M. natalensis* (Infektion: 300 Eier pro Tier)

Die Auswertung der Gruppen Ia, IIa, IIIa und Va zum zweiten Sektionstermin am 78. Tag p.i. ergab keine statistisch nachweisbaren Unterschiede in Bezug auf relatives Lebergewicht und Eizahlen pro Gramm Leber (vergl. Abb. 7 u. 8).

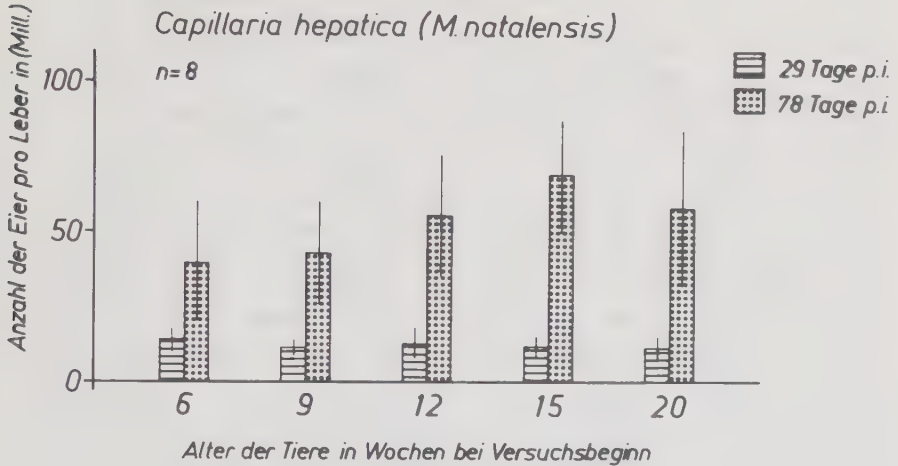


Abb. 9: Anzahl *C. hepatica*-Eier pro Leber bei zum Zeitpunkt der Infektion verschieden alten *M. natalensis* (Infektion: 300 Eier pro Tier)

In der Abbildung 9 wurden die Mittelwerte der Gesamteizahlen pro Leber dargestellt. Hieraus ist eine im Durchschnitt höhere Eizahl pro Leber bei den älteren Tieren zum zweiten Sektionstermin festzustellen. Statistisch war dieser Eindruck mit der benutzten Rechenmethode aber nicht zu erhärten. Ein signifikanter Unterschied bestand lediglich zwischen der Gruppe IIa gegenüber den Gruppen IVa und Va.

8. Eiproduktion und relative Lebergewichte bei Superinfektionen
(Versuch V)

Die Anordnung der Infektionszeitpunkte, Dosen und Sektionstermine dieses Versuches sind in der Tabelle 6 und der Abb. 10 dargestellt. Die relativen Lebergewichte aller infizierten Gruppen lagen hoch signifikant über den Werten der nicht infizierten Kontrolle (Gr. I). Beim Vergleich der Gruppen II bis V, 15 Wochen nach Versuchsbeginn, konnte zwischen den relativen Lebergewichten der Gruppe II gegenüber denen der Gruppe V nur eine leicht signifikante Erhöhung ermittelt werden. Die Eizahlen pro Gramm Leber der Gruppe II lagen leicht signifikant über den Werten der Gruppe IV und ebenfalls leicht signifikant unter den Eizahlen der Gruppe V.

Beim Vergleich der Gruppe III gegenüber den Gruppen IV und V lagen die relativen Lebergewichte der Gruppe III signifikant unter denen der Gruppe V. Die Eizahlen pro Gramm Leber der Gruppe III befanden sich hoch signifikant über den Werten der Gruppe IV, gegenüber der Gruppe V war kein statistischer Unterschied nachzuweisen.

Der Vergleich der Gruppe IV gegenüber der Gruppe V ergab hoch signifikant höhere Werte für das relative Lebergewicht und die Eizahlen pro Gramm Leber bei der Gruppe V.

Bei der statistischen Gegenüberstellung der Gruppen II, VI und VII wurden Gruppen verglichen, welche 15, 8 und 4 Wochen nach der Infektion zur Auswertung kamen.

Die relativen Lebergewichte der Gruppe II lagen signifikant über denen der Gruppe VI. Die Eizahlen pro Gramm Leber lagen hoch signifikant über denen der Gruppe VI.

Hoch signifikante Unterschiede waren zwischen den Gruppen VI und VII feststellbar, wobei die Werte der beiden Maßstäbe der Gruppe VI unter denen der Gruppe VII lagen.

Capillaria hepatica (*M. natalensis*)

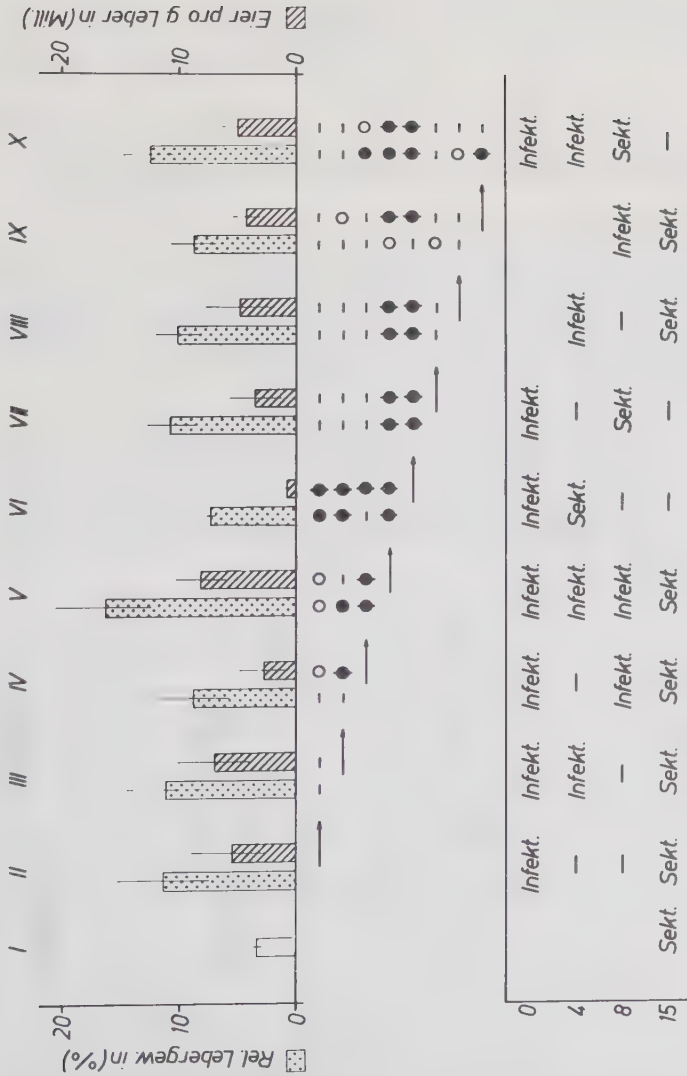


Abb. 10: Anzahl *C. hepatica*-Eier/g Leber und relative Lebergewichte bei *M. natalensis* nach einfachen Infektionen und Superinfektionen

Beim Vergleich der Gruppen III, IV und X, welche jeweils eine Superinfektion erhielten, lagen die Eizahlen pro Gramm Leber der Gruppe III hoch signifikant über denen der Gruppe IV. Die relativen Lebergewichte und Eizahlen pro Gramm Leber der Gruppe IV waren signifikant bzw. leicht signifikant unter den Werten der Gruppe X.

Zwischen den Gruppen III und X, welche 11 bzw. 4 Wochen nach der ersten Superinfektion zur Auswertung gelangten, waren keine statistischen Unterschiede nachweisbar.

9. Extraktuntersuchung mittels der PAA-Disc-Elektrophorese

Wässrige Totalextrakte aus zerkleinerten, nicht embryonierten und embryonierten Eiern von C. hepatica wurden mittels der Polyacrylamid-Disc-Elektrophorese aufgetrennt und anschließend eine Proteinfärbung mit Amidoschwarz vorgenommen. Bei dem Extrakt aus nicht embryoniertem Eimaterial (C_{ne}) konnten färberisch 8 Banden nachgewiesen werden, wohingegen bei dem Extrakt aus embryoniertem Eimaterial (C_e) nur 7 Banden festgestellt werden konnten. Bei dem Extrakt C_e fehlte die Bande in der Position III_e . In der Position VII_e waren gegenüber C_{ne} 3 Banden färberisch darstellbar, wobei diese Fraktionen wesentlich intensiver angefärbt waren.

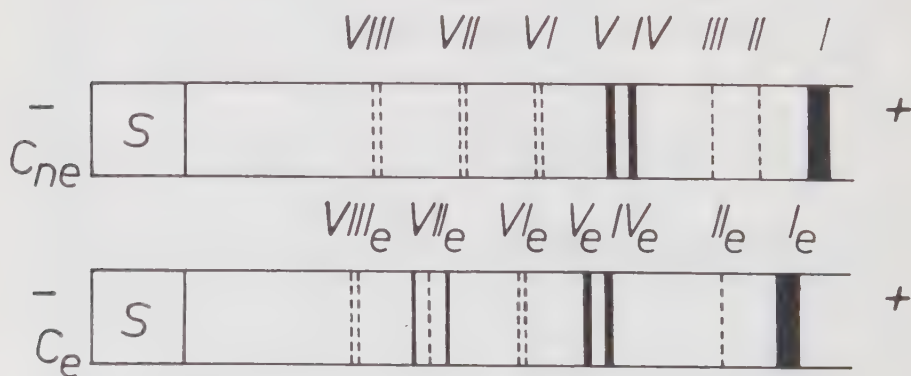


Abb. 11: PAA-Disc-Elektrophorese wässriger Totalextrakte von nicht embryonierten (C_{ne}) und embryonierten (C_e) Eiern von C. hepatica in 7,5 %igem Gel nach Anfärbung mit Amido-Schwarz 10 B. (S=Sammelgel)

10. Immunoelektrophoretische Untersuchungen (Versuche VI und II)

Immunoelektrophoretische Untersuchungen der Seren von C. hepatica-infizierten M. natalensis führten zu maximal 10 Präzipitationslinien bei Verwendung des Extraktes aus nicht embryonierten Eiern (C_{ne}) bzw. zu maximal 7 Präzipitationslinien bei Verwendung des Extraktes (C_e) aus embryonierten Eiern.

Dabei traten die Präzipitate 4, 7, 8 und 9 nur bei dem Extrakt aus nicht embryonierten Eiern, die Linie 6_e nur bei dem Extrakt aus embryonierten Eiern auf.

Unter der Position 1 bzw. 1_e ließen sich bis zu 3 Präzipitationslinien beobachten. Auf Grund ihrer gleichen elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit wurden sie unter $1' - 1'''$ bzw. $1'_e - 1'''_e$ zusammengefaßt. Eine genauere Zuordnung erwies sich als nicht möglich.

Die ersten Präzipitationslinien ließen sich 4 Wochen p.i. beobachten. Es handelte sich bei allen Gruppen um die Präzipitate $1'$ bzw. $1'_e$, wobei in dieser Position bei den weiblichen Tieren stets 3 Präzipitate ($1'''$ bzw. $1'''_e$) auftraten.

Wie aus Tabelle 10 hervorgeht, ließen sich zu diesem Zeitpunkt bereits bis zu 3 Präzipitationslinien gegenüber C_{ne} bzw. bis zu 4 Präzipitaten gegenüber C_e nachweisen (Gruppe III oo). Die sehr früh unter der Position 1 aufgetretenen Präzipitate ließen sich zum Teil ab der 14. Woche p.i. (Gruppe II oo und III oo) nicht mehr nachweisen, andererseits traten sie bei den Gruppen I oo und III oo bis zum Versuchsende auf. Die dreifache Bande in dieser Position bei den weiblichen Tieren war allerdings nach 8 Wochen p.i. nicht mehr nachweisbar.

Stets bis zum Versuchsende traten die Präzipitate 5 bzw. 5_e auf, die sich mit Ausnahme von der Gruppe III oo (4 Wochen p.i.) nicht vor der 10. Woche p.i. ausbildeten.

Ebenfalls bis zum Versuchsende war das Präzipitat 6_e zu beobach-

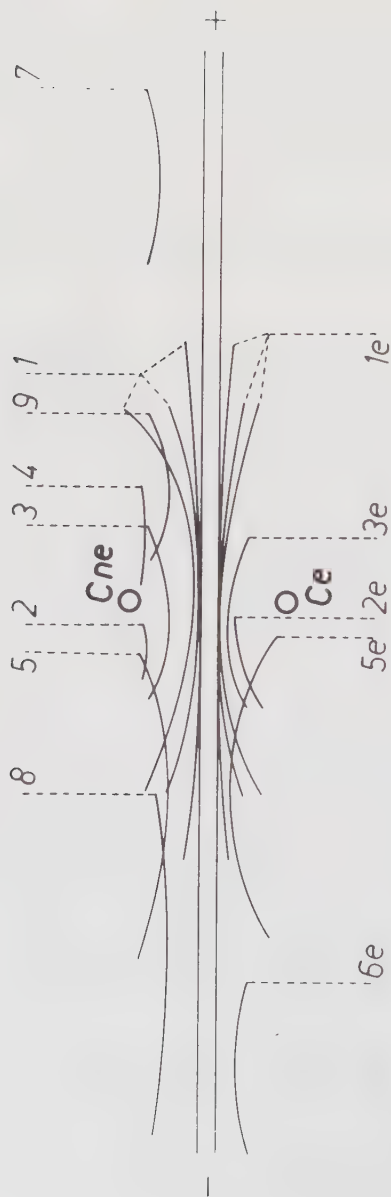


Abb. 12: Präzipitationslinien von Extrakten aus nicht embryonierten (C_{ne}) und embryonierten (C_e) Eiern von C. hepatica gegen Seren infizierter M. natalensis in der Immunoelektrophorese

Tab. 10: Auftreten der Präzipitate gegen (C_{ne}) bzw. (C_e)

♂♂											♀♀										
Gruppe I																					
Wo p. i.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9			
0		-									-										
Infekt.																					
2		-									-										
4	1' 1'e						7			1'' 1'e		2e									
6	1' 1'e									1'' 1'e		2e									
8	1' 1'e									1'' 1'e			3								
10	1' 1'e									1' 1'e			3	4		6e					
12					5					1' 1'e			3	4	5 5e	6e					
14					5	6e				1' 1'e			3	4	5 5e	6e					
18	1' 1'e				5 5e	6e				1' 1'e			3	4	5 5e	6e					
22					5 5e	6e				1' 1'e			3		5 5e	6e					
24	1' 1'e				5 5e	6e	8						3		5 5e	6e					
♂♂											♀♀										
Gruppe II																					
Wo p. i.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9			
0		-									-										
Infekt.																					
2		-																			
4	1' 1'e					6e				1'' 1'e		2e									
Infekt.																					
6	1' 1'e									1'' 1'e			3e								
8	1' 1'e					6e				1' 1'e			3e			6e					
10	1' 1'e			4	5 5e	6e			9	1' 1'e			3e		5 5e	6e					
12	1'			4	5 5e	6e			9	1' 1'e			3e		5 5e	6e					
14				4	5 5e	6e			9	1' 1'e 2			3e		5 5e	6e					
18				4	5 5e	6e				1' 1'e			3e		5 5e	6e					
22					5 5e	6e							3e		5 5e	6e					
24					5 5e	6e							3e		5 5e	6e					

ten, welches nach der 8. bis 10. Woche auftrat, sich jedoch in der Gruppe II ♂♂ 4 Wochen p.i. ausgebildet hatte.

Die Präzipitate 2, 2_e, 3, 3_e und 4 ließen sich weder im Zusammenhang mit der Dauer der Infektion noch mit den verschiedenen Superinfektionen regelmäßig nachweisen. Das Präzipitat 4 trat 18 Wochen nach der Erstinfektion nicht mehr auf.

Das Präzipitat 9 zeigte sich nur bei den superinfizierten ♂♂ 10 Wochen nach der ersten Infektion (Gruppe II ♂♂) bzw. 12 Wochen nach der Erstinfektion (Gruppe III ♂♂).

Die Präzipitate 7 und 8 konnten nur bei Gruppe I ♂♂ und jeweils einmal im gesamten Versuchsverlauf nachgewiesen werden.

In den Seren aus Versuch II konnten die ersten präzipitierenden Antikörper gegenüber beiden Extrakten (C_{ne} und C_e) am 15. Tag p.i. nachgewiesen werden. Das Auftreten bzw. das Fehlen der einzelnen Präzipitate ist aus der Tabelle 11 zur Abbildung 12 ersichtlich. Die Präzipitate 1 und 1_e waren zeitweilig in mehreren Linien ausgebildet (1' - 1" bzw. 1'e - 1"e).

Am 60. Tag p.i. traten die Präzipitate 1' und 1'_e zuletzt auf. Am 30. Tag p.i. trat in diesem Versuch einmalig die Präzipitationslinie 3_e auf. Am 39. Tag p.i. erschien erstmals gegenüber dem Extrakt C_{ne} das Präzipitat 5, am 80. und 91. Tag p.i. trat es wiederum auf, wobei zu diesen Zeitpunkten die entsprechenden Präzipitate 5_e auch gegenüber dem Extrakt C_e nachweisbar waren. Das Präzipitat 6_e trat am 60. und 91. Tag p.i. auf. Am 70. Tag p.i. trat in diesem Versuch das Präzipitat 9 einmalig auf.

Tab. 11: Auftreten der Präzipitate im Verlauf der Infektion

<u>Tage p.i.</u>	<u>Präzipitate</u>		<u>Tage p.i.</u>	<u>Präzipitate</u>	
7	-	-	24	1'''	1''' _e
11	-	-	28	1''	1'' _e
15	1'''	1'' _e	30	1'''	1''' _e , 3 _e
17	1''	1'' _e	35	1'	1' _e
18	1''	1'' _e	39	1'', 5	1'' _e
19	1'	1' _e	50	1'	1' _e
20	1''	1'' _e	60	1'	1' _e
21	1'	1' _e	70	9	-
22	1''	1'' _e	80	5	5 _e
23	1'	1' _e	91	5	5 _e , 6 _e

D. DISKUSSION

Die vorstehenden Versuche zeigen, daß bei der "multimammate rat" Mastomys natalensis Infektionen mit Capillaria hepatica gesetzt werden können, und daß diese zur Ausbildung einer fertilen Parasitenpopulation führen. Entsprechend dem bisher bekannten, sehr breiten Wirtsspektrum (PAVLOV, 1955, zit. nach SKRJABIN, 1957; LAYNE, 1968; und andere), entsprach dieser Erfolg den Erwartungen, da auch natürliche Infektionen von M. natalensis bekannt waren (COCHRANE et al., 1957).

Die quantitative Bestimmung des Infektionserfolges, wie sie an Hand der Ansitzrate bei Helminthen üblich ist, barg jedoch einige Probleme. Die Parasitenlarven waren anfangs zu klein, um sie im gequetschten Lebergewebe zu erkennen, auch wanderten sie nur unvollkommen aus dem Lebergewebe aus. Die adulten Parasiten waren durch ihre Länge und aufgeknäuelte Anordnung nur in wenigen Fällen als Einzelindividuen ansprechbar. Die Beobachtungen entsprachen den Angaben von LUTTERMOSER (1938).

Die bei der Ratte verwendete Methode des Auszählens makroskopisch erkennbarer Leberläsionen (LUTTERMOSER, 1938) war bei experimentell infizierten M. natalensis nicht brauchbar. Es konnten zwar bei mittleren Infektionsdosen (100 bis 300 Eier pro Tier) ebenfalls Einzelläsionen zu Beginn der Infektion an der Leberoberfläche erkannt werden, jedoch gingen diese um den Zeitpunkt der beginnenden Patenz ineinander über und waren nicht mehr als Einzelherde erfaßbar. Dies gilt auch für sehr niedrige Infektionen (10 bis 20 Eier pro Tier), wie sie bei der Mastomys außerhalb des Rahmens dieser Arbeit gesetzt wurden (BRUCKMANN und ZAHNER, unveröffentlicht). Selbst bei nur 5 bis 10 angegangenen Capillarien konfluieren die makroskopisch sichtbaren Nekroseherde innerhalb der 2. Patenzwoche.

Vorausgesetzt, daß die in der frühen Phase der Infektion sich dokumentierenden histopathologischen Veränderungen (HÖPPLI, 1925; LUTTERMOSER, 1938) bei der Ratte und der Mastomys in ihrem Ausmaß vergleichbar sind, dürfte der Grund hierfür in der unterschiedlichen Größe der Ratten- bzw. Mastomys-Leber zu sehen sein.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde als Kriterium für die Befallsstärke der Lebern die Anzahl der abgelegten Parasiteneier, die Eizahl pro Gramm Leber und das relative Lebergewicht geprüft. Läsionen ohne Eiansammlungen wurden bei der Mastomys nach Ablauf der Präpatenz, ähnlich wie bei der Maus (LUTTERMOSER, 1938), nicht beobachtet. Lediglich bei den erwähnten sehr niedrigen Infektionsdosen traten die von LUTTERMOSER bei der Ratte häufig festgestellten "sterilen" herdförmigen Veränderungen auch bei der M. natalensis auf.

Damit ist bei diesem Versuchstier der Einwand von LUTTERMOSER bezüglich der Eizahlbestimmung bei mittlerer Dosierung ohne Bedeutung. Über die von ihm als sehr groß bezeichneten Schwankungen der Eizahlen nach künstlicher Verdauung macht LUTTERMOSER keine näheren Angaben. Aus Ergebnissen mit 5 Ratten (WADDEL, 1969) zeigte sich allerdings 62 Tage p.i. eine große Streuung ($\bar{x} = 319\ 912$ Eier pro Leber, $s = \pm 409\ 149,95$). Aus den eigenen Untersuchungen ergab sich demgegenüber, daß die Bestimmung der Eizahlen unter Berücksichtigung bestimmter Zusammenhänge durchaus eine brauchbare Methode sein kann.

Die Anzahl Eier wurde sowohl pro Leber als auch pro Gramm Leber bestimmt. Dabei ergaben sich generell aus anschließend noch zu diskutierenden Gründen größere Streuungsbereiche für die Gesamteizahlen pro Leber (vergl. Tab. 7, 8, 9 und Abb. 9, 12). Es bestand auch hinsichtlich der verschiedenen Sektionstermine ein Unterschied. Bei der Sektion 4 Wochen p.i. waren die Standardabweichungen im Verhältnis wesentlich kleiner als bei der Sektion 11 Wochen p.i.

Im Falle der Eier pro Gramm Leber wurden bei den Sektionen 4 Wochen p.i. sehr niedrige Standardabweichungen errechnet, die zu späteren Sektionszeitpunkten ebenfalls größer, jedoch im Verhältnis wesentlich geringer als bei der Ermittlung der Gesamteizahlen waren. Insgesamt wurden für die Eizahlen pro Gramm Leber bis ca. 50 Tage p.i. relativ geringe Streuungen beobachtet (vergl. Vers. II und Abb. 2).

Zu den zu späteren Zeitpunkten p.i. aufgetretenen größeren Schwankungen könnte auch die Methode der Leberaufbereitung beigetragen haben. Die Schwierigkeiten bei der Freisetzung der Eier lagen in einer mangelhaften Auflösung des sie umschließenden starken Bindegewebes. In den Vorversuchen hatte sich zwar die HCl- Pepsin-Verdauung unter ständigem Rühren als brauchbarste Methode herausgestellt, jedoch waren bei sehr stark indurierten Lebern aus späteren Sektionsdaten zum Teil noch eingeschlossene Eischnüre in der Verdauungslösung zu beobachten. Da sie aber von den geprüften Verfahren die praktikabelste war, wurde die beschriebene Methode trotzdem gewählt, vor allem deshalb, weil eine große Anzahl von Lebern untersucht werden mußte.

Bei der Ermittlung geeigneter Infektionsdosen für *M. natalensis* (VERSUCH I) erwies sich eine Dosierung bis zu 60 Eiern pro Gramm Körpergewicht (entsprechend ca. 1 720 Eiern pro Tier) als eine für diesen Wirt durchaus zu tolerierende Dosis. Eine Erhöhung der Dosis auf 80 Eier pro Gramm Körpergewicht führte zu einem 50 %igen Absterben der Versuchstiere. 160 Eier pro Gramm Körpergewicht bewirkten den Tod aller infizierten Mastomys. Dementsprechend ist die Dosis von 80 Eiern pro Gramm Körpergewicht etwa als LD₅₀ bzw. von 160 Eiern pro Gramm Körpergewicht als LD₁₀₀ zu bezeichnen.

Die Lebern der verendeten Tiere waren hochgradig geschwollen, von gelbweißer Farbe, und die Kapseln zerplatzten bei nur leichtem Druck. Das Parenchym zeigte sich sehr mürbe und brüchig.

Auffallend war bei diesem Versuch das gehäufte Auftreten von Todesfällen in der 4. und 5. Woche p.i.. Dies stimmt mit den von LUTTERMOSER (1938) bei Mäusen gemachten Beobachtungen überein. Nach seinen Angaben ist die 4. Woche p.i. für den infizierten Wirt als sehr kritisch anzusehen, da dies die Zeit des stärksten Parasitenwachstums, der beginnenden Reproduktionstätigkeit und der massivsten Leberdestruktion ist. Als Todesursachen werden von FÜLLEBORN (1924), HÖPPLI (1925) und NISHIGORI (1925) vor allem toxische Schädigungen neben mechanischen Einflüssen angenommen.

Dieses zeitlich gehäufte Auftreten der Todesfälle deckt sich weiterhin mit den von VOLLERTHUN (1972) angestellten serumenzymatischen Verlaufskontrollen bei mit C. hepatica infizierten M. natalensis. Die als Parameter für Zellschädigungen angesehenen Transaminasen (GPT und GOT) und Dehydrogenasen (SDH, LDH und

-HBDH) stiegen hierbei mit Beginn der 3. Woche an, waren Ende der 3. Woche maximal erhöht und blieben bis zum Versuchsende (12 Wochen p.i.) signifikant erhöht. Die als Parameter für die Funktionstüchtigkeit angesehene Cholinesterase zeigte sich ab der 4. Woche p.i. bis zum Versuchsende erniedrigt. Mit diesem, in der 4. Woche p.i. der akuten Zellschädigung nachfolgenden Schwund funktionellen Parenchyms infolge der Infektion erklärt sich auch das bei der LD₅₀ gegenüber der LD₁₀₀ verzögert einsetzende Absterben der Versuchstiere.

Auch in ergänzenden, hier nicht weiter aufgeführten Untersuchungen gelang es nicht, den Beginn des Absterbens vor den 20. Tag zu verlegen.

Allerdings wurde dabei nicht die gleiche Eisuspension zur Infektion verwendet und für einen additiven Effekt bei Erhöhung der Dosen liegen keine Beweise vor. Die Ergebnisse zeigen aber, daß die entscheidende Phase für die Überlebenschance des Wirtes mit der eintretenden Patenz des Parasiten beginnt (vergl. Versuch II).

Ein Vergleich der hier gefundenen letalen Dosis mit den von LUTTERMOSER (1938) ermittelten Werten dürfte problematisch sein. Einmal fehlen bei LUTTERMOSER Gewichtsangaben, die, wie die vorliegenden Versuche zeigen, in Hinblick auf die Lebergröße von Bedeutung sein können. Weiterhin wären solche Vergleiche nur dann sinnvoll, wenn einheitliches Infektionsmaterial zur Anwendung gekommen wäre. Bei einer angenommenen ähnlichen Infektiosität des Eimaterials und unter Berücksichtigung der von LUTTERMOSER für die verwendeten Ratten angegebenen Gewichte bzw. des durchschnittlichen Gewichts adulter Mäuse ergäbe sich eine ansteigende tolerierbare Infektionsdosis in der Reihenfolge Maus- Mastomys-Ratte, was auch im Sinne eines zunehmenden absoluten Lebervolumens verständlich wäre.

Bei der Ermittlung des Infektionsverlaufes (Versuch II) ließen sich Veränderungen an den Lebern 7 Tage p.i. nur mit der Lupe erkennen. In der Folge bildete sich, über einander berührende herdförmige Läsionen zu Beginn der Patenz, eine völlig zirrhotische Umwandlung der Lebern nach dem 70. Tag p.i. aus.

Die Patenz der Capillaria hepatica beginnt bei der Mastomys natalensis am 20. Tag p.i..

Die in der Literatur vorhandenen diesbezüglichen Angaben für die Maus betreffen den Zeitraum zwischen dem 18. und 21. Tag p.i. (vergl. LUTTERMOSER, 1938; PAVLOV, 1955; WRIGHT, 1961; siehe auch Tab. 3), für die Ratte den Zeitraum zwischen dem 21. und 33. Tag p.i. (vergl. LUTTERMOSER, 1938; LEE, 1964; FÜLLEBORN, 1925; NISHIGORI, 1925; SHIMATANI, 1960; siehe auch Tab. 3). Bei Kaninchen bzw. Schwein ist die Präpatenz kürzer als 29 Tage (vergl. MORGAN, 1932) oder 30 Tage (vergl. TROMBA, 1959) anzusehen. Diese Angaben deuten daraufhin, daß der Beginn der Legetätigkeit von der Art des Wirtes abhängig sein könnte.

Darüber hinaus muß aber auf Grund ergänzender Versuche (BRUCK-

MANN und ZAHNER, unveröffentlicht) auch der Befallsgrad des Wirtes für den Beginn der Reproduktionstätigkeit in Betracht gezogen werden. Nach sehr massiven Infektionen (25 000 bis 100 000 Eier pro Tier) wurden erst nach 22 Tagen p.i. die ersten Eier in der Wirtsleber beobachtet und somit eine Verzögerung der Patenz um 2 Tage ermittelt.

Die Ursache dürfte in einem over-crowding-Effekt zu sehen sein. Der Parasit verschlechtert sein Milieu unter Umständen durch entsprechend vermehrte Anhäufung von Stoffwechselprodukten bzw. durch Nahrungskonkurrenz (vergl. STEWARD, 1955; WINFIELD, 1933).

Der Kurvenverlauf der Eiproduktion, dargestellt durch die Anzahl Eier pro Gramm Leber (Abb. 2), gliedert sich in eine nur kurze Beschleunigungsphase, eine ca. 3-wöchige additive Phase, eine ebenfalls nur kurze Verzögerungsphase und, nach Ende der Reproduktionstätigkeit, in eine stationäre Phase. Die Eiproduktion der Parasiten, gemessen in der Gesamteizahl pro Leber, verlief nach einer kurzen Anlaufphase ebenfalls nahezu kontinuierlich mit einer täglichen Zuwachsrate von 2 bis 3 Millionen Eiern bis zum 40. Tag p.i.. Die Verzögerungsphase lag zwischen dem 40. und 50. Tag p.i., nach dem 50. Tag p.i. war kein Zuwachs der Eizahlen mehr zu verzeichnen (Abb. 3).

Im Falle der hier verwendeten Infektionsdosis wurde demnach von den sich entwickelnden Weibchen innerhalb von etwa 3 Wochen die Hauptmenge der Eier abgelegt. Die Schwankungen mit teilweisem Anstieg der Werte pro Gramm Leber in der stationären Phase erklären sich im Zusammenhang mit dem Verlauf des relativen Lebergewichts, welches nach dem 50. Tag p.i. eine abfallende Tendenz erkennen ließ. Dieses Absinken der relativen Lebergewichte kann mit der narbigen Umwandlung des mesenchymalen Reparaturgewebes erklärt werden. Bei der zur Verfügung stehenden relativ geringen Versuchstierzahl war ein statistischer Vergleich der einzelnen Sektionsgruppen nicht sinnvoll.

Nimmt man die Reproduktionstätigkeit der Capillarien als Index für deren Vitalität, so kann ein Absterben der weiblichen Parasiten nach dem 50. Tag p.i. angenommen werden. Bei der mikroskopischen Betrachtung der Nematoden im Trichinenkompressorium erschienen diese am 70. Tag p.i. noch morphologisch intakt, allerdings war die vorher stets zu beobachtende aktive Bewegung nicht mehr zu erkennen. Die aktive Bewegung ist zwar kein sicheres Merkmal für die Vitalität der Parasiten- außer durch den Tod bedingt könnte die Bewegung auch durch das stark bindegewebig induzierte Lebergewebe unterbunden worden sein -. Auf Grund der am 60. Tag p.i. noch beobachteten Bewegung muß aber der Tod der weiblichen Capillarien nach dem 60. Tag p.i. eintreten.

Dieser Zeitpunkt stimmt mit den von FÜLLEBORN (1938), LEE (1964) und WADDEL (1969) bei der Ratte und den von WRIGHT (1961) bei der Maus gemachten Beobachtungen überein. Eine Differenzierung der männlichen und weiblichen Parasiten im Quetschpräparat war durch die Dichte des Lebermaterials nur selten mit Sicherheit möglich. LEE (1964) und PAVLOV (1955) geben für die männlichen Capillarien einen wesentlich früheren Absterbetermin an. Möglicherweise bezieht sich die Angabe von LUTTERMOSER (1938) - Desintegration bei der Ratte ab dem 28. Tag p.i. - auf männliche Parasiten. Der von PAVLOV (1955) für die Maus angegebene Absterbetermin weiblicher Parasiten mit 26 bis 28 Tagen p.i. liegt dagegen wesentlich früher.

In diesem Zusammenhang erhebt sich auch die Frage nach der Todesursache für die Capillarien. Grundsätzlich denkbar ist ein Absterben infolge des durch die Parasitierung stark veränderten Lebensraumes, der von einem bestimmten Zeitpunkt an nicht mehr den Ansprüchen genügt. Weitere Gründe für das Absterben wären in einer nur kurzen, genetisch fixierten Lebenserwartung oder als Folge immunologischer Reaktionen des Wirtes zu sehen. Nimmt man die Veränderung des Lebensraumes als Todesursache an, so wäre der Zeitpunkt des Absterbens weitgehend von der Höhe der Infektion ab-

hängig. Unter Umständen waren die Mäuse bei PAVLOV (1955) sehr stark infiziert. Diese Probleme bedürfen aber einer weiteren Klärung.

Bei der Überprüfung einer Abhängigkeit der Eiproduktion von der Infektionsdosis (VERSUCH III) konnte gezeigt werden, daß die am 29. Tag p.i. gemessene Eiproduktion mit steigender Dosierungshöhe zunimmt, sich jedoch bei den beiden am höchsten infizierten Gruppen (800 bzw. 1 600 Eier pro Tier) nicht unterscheidet. Der Unterschied zwischen den Infektionen mit 100 bzw. 200 Eiern pro Tier war nicht signifikant. Entsprechend den Gesamteizahlen verhalten sich die Werte pro Gramm Leber und die relativen Lebergewichte.

Die Gesamteizahlen zeigten 78 Tage p.i. mit einer leicht signifikanten Ausnahme bei großen Schwankungen ähnliche Werte. Bei den mit 800 und 1 600 Eiern pro Tier infizierten Gruppen unterschieden sich jedoch im Gegensatz zu den niedriger infizierten Tieren die Gesamteizahlen 78 Tage p.i. nicht von jenen 28 Tage p.i..

Diese Beobachtung weist darauf hin, daß das zur Verfügung stehende Lebervolumen als ein die Eiproduktion limitierender Faktor anzusehen ist. Die gleiche Eizahl 29 und 78 Tage p.i. bei den Gruppen IV und V könnte dahingehend ausgelegt werden, daß bei dieser hohen Befallsdichte (800 und 1 600 Eier pro Tier) die Lebern schon um den ersten Sektionstermin das Maximum an Parasiteneiern aufgenommen haben und die Capillarien im Gegensatz zu jenen in geringer parasitierten Lebern durch die Raumbegrenzung hiernach ihre Legetätigkeit einstellen mußten, oder möglicherweise abgestorben waren.

Hinsichtlich der Anzahl Eier pro Gramm Leber bestand 78 Tage p.i. zwischen den Gruppen I bis III kein Unterschied. Die Gruppen IV und V wiesen leicht signifikant niedrigere Werte auf. Denkbar wäre, daß zwar die Legetätigkeit der Parasiten von einem bestimmten Termin an eingestellt wurde, der reparatorische Umwandlungsprozess durch noch vorhandene Parasiten aber weiterhin zunahm. In diesen Fällen ist auch an ein möglicherweise früheres Absterben als Folge eines over-crowding-Effekts zu denken.

In diese Überlegung - die Leber als limitierender Faktor - ordnet sich auch das Auffinden abgekapselter Capillarien mit ihren Geschlechtsprodukten in der Bauchhöhle der hoch infizierten Wirte ein. Adulte Parasiten außerhalb der Leber wurden schon von LUTTERMOSER (1938) und WRIGHT (1961) in der Bauchhöhle gefunden. Hinzu kommt, daß diese Parasiten nach LUTTERMOSER eine Länge von maximal 12 cm aufwiesen, wohingegen in der Leber Längen von 3,7 cm bei den Männchen und maximal 8 cm bei den Weibchen gemessen wurden. Allerdings konnte WRIGHT bei P. leucopus keine solchen Unterschiede beobachten. Unter Berücksichtigung der von VOGEL (1930) beschriebenen ausgesprochenen Organotropie und der Tatsache, daß adulte Capillarien bei hoch infizierten Tieren in der Peritonealhöhle in frühen Infektionsstadien nicht nachgewiesen werden konnten, darf eine durch Raumnot bedingte Auswanderung einzelner adulter Capillarien aus der Leber angenommen werden.

Die Untersuchungen hinsichtlich einer Abhängigkeit der Eiproduktion vom Alter der Mastomys natalensis (VERSUCH IV) zeigten, daß 29 Tage p.i. weder hinsichtlich der Gesamteizahl noch hinsichtlich der Anzahl Eier pro Gramm Leber bei den zu Versuchsbeginn 6, 9, 12, 15 und 20 Wochen alten Tieren ein Unterschied bestand. Bei der Auswertung 78 Tage p.i. zeigten sich mit zunehmendem Alter (bis 15 Wochen bei Versuchsbeginn) vermehrte Eizahlen pro Leber, die allerdings statistisch nicht absicherbar waren.

In der Anzahl Eier pro Gramm Leber ließ sich diese Tendenz nicht erkennen.

Die absoluten Lebergewichte unterschieden sich 28 Tage p.i. nicht. 78 Tage p.i. zeigte sich mit zunehmendem Alter eine ansteigende Tendenz. Aus gleicher Gesamteizahl, gleichem absoluten Lebergewicht und dementsprechend gleicher Anzahl Eier pro Gramm Leber erweist sich, daß die Eiproduktion 28 Tage p.i. nicht vom Alter der Versuchstiere beeinflusst wird. Da nach Versuch III mit zunehmender Infektionsdosis zu diesem Überprüfungszeitpunkt zunehmende Eizahlen zu beobachten sind, ist nicht anzunehmen, daß die Invasion

der Leber und die Erreichung der Geschlechtsreife der Parasiten im geprüften Altersspielraum des Wirtes altersabhängig ist.

Das abfallende relative Lebergewicht am 28. Tag p.i. entspricht einem allgemeinen physiologischen Verlauf innerhalb der Wachstumsperiode (vergl. NICKEL, SCHUMMER, SEIFFERLE, 1960) und unterstützt die gemachte Aussage.

Die 78 Tage p.i. beobachtete, allerdings statistisch nicht absicherbare Zunahme der absoluten Eizahlen mit zunehmendem Alter und die gleichbleibenden Werte für die Anzahl Eier pro Gramm Leber in Verbindung mit den ebenfalls gleichbleibenden Lebergewichten lassen den Schluß zu, daß die Eiproduktion insgesamt von einem zunehmenden Alter der M. natalensis nicht negativ beeinflusst wird, sondern vielmehr die insgesamt produzierte Eizahl von dem zur Verfügung stehenden Lebervolumen abhängt. Eine ausgesprochene Altersresistenz, wie sie LUTTERMOSER (1938) bei der Ratte nachweisen konnte, war bei der M. natalensis mit diesem Maßstab also nicht zu ermitteln.

Im Versuch V sollte an Hand der Eizahlen geprüft werden, ob durch vorherige Infektionen ein schützender Effekt gegenüber Superinfektionen erreicht werden kann. Im Gegensatz zu den vorherigen Versuchen schien es hier bei bis zu dreimaliger Infektion angebracht, die Einzeldosen auf 100 Eier pro Tier zu reduzieren, um auftretende Unterschiede ermitteln zu können.

Entsprechend den Ergebnissen mit unterschiedlichen Dosierungen (vergl. Vers. III) war ein rein additiver Effekt bezüglich der Eizahlen bei Superinfektionen nicht zu erwarten und trat auch nicht ein (vergl. Abb. 10; die superinfizierten Gruppen III, IV und V mit den jeweiligen Kontrollen II, VI, VII bis X). Lediglich bei der an sich als Kontrolle eingesetzten Gruppe X (vergl. Gruppe VI plus VII) wäre dieser Effekt denkbar und aus dem Folgenden auch deutbar.

Der Zeitpunkt p.i., zu dem die Superinfektion gesetzt wurde, scheint nach den Ergebnissen der Gruppen II, III und IV von Bedeutung zu

sein. In der Gruppe III (einmalige Superinfektion nach 4 Wochen) wurden hoch signifikant mehr Eier gefunden als in der Gruppe IV (einmalige Superinfektion nach 8 Wochen). Die Gruppe IV enthielt darüberhinaus leicht signifikant weniger Eier als die Gruppe II. Eine eventuelle Hemmung der Eiproduktion einer bestehenden Parasitenpopulation durch eine nach 8 Wochen p.i. folgende Superinfektion erscheint daher möglich, müßte allerdings besser abgesichert werden. Eine sicherere Aussage wäre möglich gewesen, hätten die Werte der sich nicht von Gruppe IV unterscheidenden Gruppe VII signifikant unter denen der Gruppe II gelegen. Dieser Versuch wäre mit einer früher zu applizierenden Superinfektion anzusetzen, um jetzt sinngemäß eine bessere Differenzierung zwischen den Gruppen II und VII zu erreichen.

Die Bedeutung des Zeitpunktes einer Superinfektion dokumentiert sich auch bei der Gruppe V (zweifache Superinfektion nach 4 bzw. 8 Wochen), die sich hinsichtlich der Eiproduktion nicht von der Gruppe III unterscheidet, allerdings anders als Gruppe III leicht signifikant mehr Eier enthielt als Gruppe II. Damit wird aber einer möglichen Hemmung der Eiproduktion bestehender Populationen durch späte Superinfektionen widersprochen.

Das relative Lebergewicht stellte sich zwar als ein gewisser Gradmesser für grobe Unterschiede heraus, spiegelte aber nicht immer die Anzahl der abgelegten Eier wieder.

Nach den Ergebnissen von LUTTERMOSER (1938) bei der Ratte war mit einer erworbenen Immunität zu rechnen. Auf Grund der statistisch nicht unterscheidbaren Eizahlen der Gruppen II und III, wobei die Gruppe III allerdings mehr Eier enthielt, kann auch bei der M. natalensis ein erworbener Schutzmechanismus 4 Wochen p.i. angenommen werden. Dieser scheint aber unter Einbeziehung der Gruppe V in die Überlegung nicht sehr ausgeprägt zu sein. Ein effektiver Schutz dürfte aber gegen eine 8 Wochen nach der Erstinfektion gesetzte Superinfektion bestehen.

Neben einem rein immunologischen Phänomen muß aber in Betracht gezogen werden, daß die Leber zu diesem Zeitpunkt bereits als stark verändert anzusehen ist. Es erhebt sich daraus die zu klärende Frage, in welchem Ausmaß Larven I von C. hepatica in solche Lebern eindringen bzw. ob sie nach dem Eindringen in einem entsprechend veränderten Biotop Geschlechtsreife erlangen können.

An möglicherweise unterschiedliche Reaktionen von Ratte und M. natalensis gegenüber C. hepatica muß auch auf Grund der gegenüber LUTTERMOSER (1938) differierenden Ergebnisse hinsichtlich der Embryonierungsfähigkeit der Eier aus alten Infektionen gedacht werden. Bei LUTTERMOSER embryonierten lediglich 17 % der Eier aus einer 7 Monate alten Infektion, während in den vorliegenden Untersuchungen die Embryonierungsfähigkeit nicht vom Alter der Infektion abhing.

Für die zur Herstellung von Extrakten aus embryonierten (C_e) und nicht embryonierten (C_{ne}) Eiern notwendige Zerstörung der Eihüllen von C. hepatica erwies sich der Zellhomogenisator MSK (Fa. Braun, Melsungen) als geeignet. Die so erhaltenen Extrakte stellten ein heterologes Gemisch dar, deren Proteinkomponenten in der PAA-Disc-Elektrophorese anodisch wanderten und sich in ihrer Molekülgröße bzw. Ladung unterschieden (vergl. Abb. 11).

Insgesamt ließen sich 8-(Extrakt C_{ne}) bzw. 9 Banden (Extrakt C_e) färbereichs darstellen, wobei die elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit für die Fraktionen I bzw. I_e , II bzw. II_e , IV bzw. IV_e , V bzw. V_e , VI bzw. VI_e und VIII bzw. $VIII_e$ übereinstimmen dürfte. Unterschiede zeigten sich lediglich durch das Fehlen der Bande in der Position III bei dem Extrakt C_e und das Auftreten einer dreikomponentigen Bande in der Position VII bei dem Extrakt C_e gegenüber nur einer Bande bei dem Extrakt C_{ne} . Die in Position I auftretende Bande erwies sich bei beiden Extrakten als die sich am intensivsten anfärbbare.

Die Extrakte reagierten mit Seren infizierter M. natalensis im prä-

zipitierenden System. Hinsichtlich des Extraktes aus nicht embryonierten Eiern ließen sich insgesamt 8 verschiedene, hinsichtlich des Extraktes aus embryoniertem Eimaterial 5 unterschiedliche Präzipitate nachweisen. Die Präzipitate 4, 7, 8 und 9 traten nur gegen C_{ne} , das Präzipitat 6_e nur gegenüber C_e auf. Der Extrakt C_e enthielt demnach trotz geringerer Anzahl Banden in der PAA-Disc-Elektrophorese eine größere Anzahl präzipitierender Antigene. Unter Umständen wäre jedoch bei einem größeren Vernetzungsgrad des Trenngels eine weitere Auftrennung möglich gewesen.

Die Präzipitate waren bei den weiblichen Mastomys stets ausgeprägter. Ebenso tauchte nur bei ihnen bis maximal 8 Wochen p.i. eine dreifache Bande unter der Position 1 auf. Andererseits ließen sich die Präzipitate 7, 8 und 9 nur bei den männlichen Versuchstieren beobachten. Zum Zwecke sicherer Aussagen über einen geschlechtsabhängig unterschiedlichen Antikörperspiegel mußten weitere quantitative Untersuchungen angestellt werden.

Die ersten Präzipitate im Verlauf der C. hepatica-Infektion traten 15 Tage p.i. auf (vergl. serologische Untersuchungen zu Versuch II), und zwar in Form der Präzipitate $1^{\sim}$ und $1_e^{\sim}$. Demnach enthielten die Extrakte nicht nur eispezifische antigene Substanzen. Zumindest muß dies für die Präzipitate $1^{\sim}$ und $1_e^{\sim}$ angenommen werden.

Die übrigen Präzipitate ließen sich erst nach Erreichen der Patenz, entsprechend den gewählten Blutentnahmezeitpunkten, 4 Wochen p.i. nachweisen. Unter Einbeziehung aller Gruppen erscheint es nicht möglich, einzelne Präzipitate bestimmten Infektionsphasen zuzuordnen. Lediglich das Präzipitat 9 trat frühestens 10 Wochen p.i. bei den superinfizierten Gruppen männlicher Tiere auf. Dieses Präzipitat als eispezifisch zu bezeichnen, wäre aber auf Grund der Superinfektionen verfehlt.

Die durchgeführten Untersuchungen lassen für die Capillaria hepatica-Infektion der Mastomys natalensis auf ein ausgeglichenes Wirt-Parasit-Verhältnis schließen. Es ist allerdings gegenüber der Ratte zugunsten

des Parasiten verschoben. Sterile Nekroseherde, wie sie bei der Ratte vorkommen, wurden hier kaum beobachtet. Die Embryonierungsfähigkeit der ins Leberparenchym abgelegten Eier war auch nach langer Infektionsdauer nicht herabgesetzt. Eine Resistenzerhöhung mit zunehmendem Alter der Versuchstiere konnte nicht beobachtet werden. Andererseits tolerierte der Wirt massive Infektionen, die zu einer weitgehenden zirrhotischen Umwandlung der Leber führten.

Die C. hepatica-Infektion der M. natalensis dürfte daher als Modell für verschiedene Fragestellungen geeignet sein. Der Infektionserfolg war sicher. Die Anzahl der vom Parasiten produzierten Eier ließ sich quantitativ erfassen. Die bei der Bestimmung der Eizahlen zu beobachtenden Schwankungen waren unter Berücksichtigung des Lebergewichts zumindest in der ersten Phase der Infektion nicht sehr groß. Darüber hinaus zeigte sich, daß ebenfalls in der frühen Infektionsphase die Anzahl der produzierten Eier von der Größe der Infektionsdosis abhängig ist.

E. ZUSAMMENFASSUNG

In experimentellen Infektionsversuchen zum Studium des Wirt-Parasit-Verhältnisses bei der Capillaria hepatica-Infektion der Mastomys natalensis konnten folgende Ergebnisse erzielt werden:

1. Infektionen von M. natalensis mit C. hepatica führen regelmäßig zu reproduktionsfähigen Parasitenpopulationen in der Leber des Wirtes.
2. Die Tiere überlebten sicher bis zu einer Infektion mit 60 Eiern pro Gramm Körpergewicht. Bei 80 Eiern pro Gramm Körpergewicht starben 50 %, bei 160 Eiern pro Gramm Körpergewicht 100 % der Versuchstiere nach Beginn der Patenz zwischen der 3. und 6. Woche p.i..
3. Die Präpatenz endete bei einer mittleren Infektionsdosis (100 bis 300 Eier pro Tier) nach 20 Tagen. Bei massiven Infektionen (25 000 bis 100 000 Eier pro Tier) dauerte sie 2 Tage länger. Die Kurve der Eiproduktion zeigte nach einer Infektion mit 300 Eiern pro Tier eine ca. 4-tägige Beschleunigungsphase, eine ca. 3-wöchige additive Phase mit anschließender kurzer Verzögerungsphase. Die Eiproduktion endete nach dem 50. Tag p.i.. Die Lebensdauer der weiblichen Parasiten muß mit über 60 Tagen angenommen werden.
4. Die Eiproduktion erwies sich 28 Tage p.i. als abhängig von der Höhe der Infektionsdosis. 78 Tage p.i. unterschied sich die Anzahl der Eier pro Gramm Leber nach Infektionsdosen zwischen 100 und 1 600 Eiern pro Tier nicht mehr. Das zur Verfügung stehende Leberevolumen scheint ein Faktor zu sein, der sich limitierend auf die Eiproduktion auswirkt.
5. Die Eiproduktion war 28 Tage p.i. bei 6, 9, 12, 15 und 20 Wochen alten M. natalensis gleich groß. 78 Tage p.i. zeigten sich, statistisch nicht absicherbar, mehr Eier in den Lebern der

älteren Tiere. Eine erhöhte Resistenz bei den älteren Tieren bestand demnach nicht.

6. Bei Superinfektionen konnte hinsichtlich der Eiproduktion kein additiver Effekt festgestellt werden. Ein schützender Effekt der Erstinfektion ist gegenüber einer 8 Wochen später gesetzten Superinfektion höher als gegenüber einer bereits nach 4 Wochen gesetzten Superinfektion. Die möglichen Ursachen werden diskutiert.

7. Nicht embryonierte und embryonierte Eier von C. hepatica wurden zerkleinert und deren wässrige Totalextrakte sowohl in der PAA-Disc-Elektrophorese aufgetrennt, als auch auf ihre Antigenität gegen Seren infizierter M. natalensis in der Immuno-elektrophorese überprüft. Die ersten Präzipitate traten nach 15 Tagen p.i., das heißt vor Beginn der Patenz, auf.

S u m m a r y

In experiments on the host-parasite relationship of Capillaria hepatica in Mastomys natalensis the following results could be obtained:

1. Infections of M. natalensis with C. hepatica became always patent in the host's liver.
2. All animals survived an infection with 60 eggs /g body weight, 50 % with 80 eggs/g bdw. and 0 % with 160 eggs/g bdw.. The animals died after beginning of the patency between the 3rd and 6th week.
3. In the case of a medium dose (100 - 300 eggs/animal) the prepatent period lasted 20 days, after heavy infections (25 000 - 100 000 eggs/animal) it was prolonged for 2 days. The curve showing the egg production of an infection with 300 eggs/animal was initially accelerated for 4 days, additive for approximate 3 weeks, and showed finally a short period of retardation. Egg production stopped after 50 days p.i.. The longevity of the female parasite is assumed to be more than 60 days.
4. 28 days p.i. the egg production depended on the infective dose. 78 days p.i. there were no differences between the egg/g liver after doses of 100 and 1600 eggs/animal. The size of the liver seems to be a limiting factor for the egg production.
5. 28 days p.i. the egg production was constant in 6, 9, 12, 15 and 20 weeks old M. natalensis. 78 days p.i. more eggs were found in the liver parenchyma of older animals. Therefore a higher resistance of older animals could not be demonstrated.
6. Concerning the egg production after superinfection no additive effect could be found. A protective effect

proved to be more distinct in animals superinfected after 8 weeks than 4 weeks. The reasons are discussed.

7. Non embryonated and embryonated eggs of C. hepatica were homogenized, their aqueous total extracts were separated by PAA-Disc-Electrophoresis and investigated by Immuno-Electrophoresis for their antigenicity against sera of infected M. natalensis. The earliest precipitations could be demonstrated already during the prepatent period, 15 days after infection.

F. LITERATURVERZEICHNIS

Bancroft, T.L. (1893)

On the whip-worm of the rat's liver

J. and Proc. Roy. Soc. New South Wales, 27, 86-90.

Beck, J.W., Beverley-Burton, M. (1968)

The pathology of Trichuris, Capillaria and Trichinella infections.

Helminth. Abstracts, 37, 1-26.

Brosius, O.T., Thomas, E.E. and Brosius, B. (1948)

Capillaria hepatica (a case report)

Trans. Roy. Soc. trop. Med. Hyg., 42, 95-97.

Calle, S. (1961)

Parasitism by Capillaria hepatica.

Pediatrics, 27, 648-655.

Chabaud, A.G., Rausch, R.L. et Desset, M. Cl. (1963)

Nematodes parasites de rongeurs et insectivores japonais.

Bull. Soc. Zool. France, 88, 5-6, 489-512.

Cochrane, J.C., Sagorin, L. and Wilcocks, M.G. (1957)

Capillaria hepatica infection in man.

S. Afr. Med. J., 31, 751-755.

Davis, B.J. (1964)

Disc-Elektrophoresis II. Method and applicatio to human serumproteins.

Ann. N.Y. Acad. Sci., 121, 404-417.

Dive, G.H., Lafrenais, H.M. and Mac Arthur, W.P. (1924)

A case of deposition of eggs of Hepaticola hepatica in the human liver. With a note on the identity of the eggs.

Roy. Army Corps., 43, 1-4.

- Engler, G. and Sanchez, G. (1950)
Capillaria hepatica (Bancroft, 1893). A case report.
Trans. Roy. Soc. trop. Med. Hyg., 43, 443-444.
- Ewing, G.M. and Tilden, I.L. (1956)
Capillaria hepatica; report of fourth case of true
human infestation.
J. Pediatr., 48, 341-348.
- Fain, A. (1953)
Observations sur Hepaticola hepatica (Bancroft, 1893)
Hall 1916, au Congo Belge.
Ann. Soc. Belge Med. trop., 33, 107-117.
- Foster, A.O. and Johnson, C.M. (1939)
An explanation for the occurrence of Capillaria hepatica
ova in human faeces suggested by the finding of three
new hosts used as food.
Trans. Roy. Soc. trop. Med. Hyg., 32, 639-644.
- Freeman, R.S. and Wright, K.A. (1960)
Factors concerned with the epizootiology of Capillaria
hepatica (Bancroft, 1893) (Nematoda) in a population of
Peromyscus maniculatus in Algonquin Park Canada.
J. Parasit., 46, 373-382.
- Fülleborn, F. (1924)
Ueber den Infektionsweg bei Hepaticola hepatica.
Arch. Schiffs Tropenhyg., 28, 148-161.
- Garcia, F.R., Mendiola, G.J. and Biagi, F.F. (1962)
Eosinofilia elevada con manifestaciones viscerales.
Primer caso de infección por Capillaria hepatica in Mexico.
Bol. Hosp. infant Mexico, 19, 473-479.
- Ghelhardoni, E. (1966)
Infestione da Capillaria hepatica (Bancroft, 1893) nei
muridi della Provincia di Pisa.
Annali Fac. Med. vet. Univ. Pisa, 18, 91-100.

- Gupta, I. M., Randhawa, H.S. (1960)
Pathological changes in the liver of wild rats due to
Capillaria hepatica with a note on its propable human
occurence in India
Ind. J. of Medical Research, 48, (5), 565-570.
- Hall, M.C. (1916)
Nematode Parasites of Mammals of the Orders Rodentia,
Lagomorpha and Hyracoidea
Proc. U.S. Nat. Mus. Washington, 50, 258.
- Höppli, R. (1925)
Die histologischen Veränderungen in der Rattenleber bei
Infektionen mit Hepaticola hepatica (Bancroft, 1893)
Hall, 1916.
Zschr. Inf.krkh. Haustiere, 27, 199-206.
- Kallichurum, S. and Elsdon-Dew, R. (1961)
Capillaria in man. A case report.
S. Afr. Med. J., 35, 860-861.
- Layne, J.N. (1968)
Host and ecological relationships of the parasitic
helminth Capillaria hepatica in Florida mammals
Zoologica, N.Y., 53, (4), 107-123.
- Layne, J.N. and Griffo, J.V. (1961)
Incidence of Capillaria hepatica in populations of the
Florida deer Mouse, Peromyscus floridanus
J. Parasit., 47, (1), 31-37.
- Lee, Ch.W. (1964)
Capillaria hepatica.
The Experimental Studies on Capillaria hepatica
Korean J. Parasitology, 2, (1) 63-80.
- Liu, J.C., Whalen, G.E., Cross, J.H. (1970)
Capillaria ova in human sputum
J. Formosan Med. Ass., 69, (2) 80-82.

Luttermoser, G.W. (1936)

A helminthological survey of Baltimore house-rats

(Rattus norvegicus).

Am. J. Hyg., 24, 350-360.

Luttermoser, G.W. (1938)

Factors influencing the development and viability of the eggs of Capillaria hepatica.

Am J. Hyg., 27, 275-289.

Luttermoser, G.W. (1938)

An experimental study of Capillaria hepatica in the rat and mouse.

Am. J. Hyg., 27, 321-340.

Mac Arthur, W.P. (1924)

A case of infestation of the human liver with Capillaria hepatica (Bancroft, 1893) Hall 1916.

Proc. Roy. Soc. Med. Sec. trop. Dis. Paras., 17, 83-84.

Mc Quown, A.L. (1950)

Capillaria hepatica: report of genuine and spurious cases.

Am. J. trop. Med., 30, 761-767.

Mc Quown, A.L. (1954)

Capillaria hepatica.

Am. J. Clin. Pathol., 24, 448-452.

Matsusaki, G. (1951)

Studies on the life history of the hockworm. Part VII:

On the development of Ancylostoma caninum in the abnormal host.

Yokohama Medical Bulletin, 2, (3), 154-160

Mobedi, I., and Arfaa, F. (1971)

Probable Role of Ground Beetles in the Transmission of Capillaria hepatica

J. Parasit., 57, 1144-1145.

Momma, K. (1930)

Notes on modes of rat infestation with Hepaticola hepatica.
Ann. trop. Med. Parasit., 24, 109-113.

Morgan, D. O. (1931)

On the occurrence of Hepaticola hepatica as a natural
infection of the wild Rabbit in England.
J. Helminth., 39, 39-40.

Nickel- Schummer- Seiferle (1960)

Lehrbuch der Anatomie der Haustiere (Bd. II)
Paul Parey in Berlin und Hamburg

Nishigori, M. (1925)

On the life history of Hepaticola hepatica (II report).
Formosan Med. Ass., 247, 3-4.

Otto, G. F., Berthrong, M., Appleby, R. E., Rawlins, J. C. and
Wilbur, O. (1954)

Eosinophilia and hepatomegalia due to Capillaria hepatica
infection.
Bull. John Hopkins Hospital, 24, 319-336.

Pampiglione, S., Conconi, G. (1970)

Primo caso di Capillariosi Epatica osservata nell'uomo
in Italia.
Parasitologia, 12, 125-134.

Piazza, R., Corrêa, M. O. A. e Fleury, R. N. (1963)

Sobre un caso de infestaco humana por Capillaria hepatica.
Rev. Inst. Med. trop. Sao Paulo, 5, 37-41.

Railliet, A. (1889)

Recherches Experimentales sur les Tumeurs Vermineuses
du Foie des Murides
Bull. Soc. Zool., 14, 62-67.

Rausch, R. (1961)

Notes on the occurrence of Capillaria hepatica (Bancroft, 1893).
Proc. Helminth. Soc. of Washington, 28, (1) 17-18.

- Sadun, E.H., Schoenbechler, M.J., Bentz, M. (1965)
Multiple antibody response in Schistosoma mansoni-infections. Antigenic Constituents in eggs, cercariae and adults (excretions and secretions) determined by flocculation reactions, cross adsorption and double diffusion studies.
Amer. J. trop. Med. Hyg., 14, 977-995.
- Scheidegger, L.J. (1955)
Une micro-méthode de l'immuno-électrophorèse.
Int. Arch. Allergy, 7, 103-110.
- Schmidt, E.C.H. and Richter, C.P. (1956)
Cirrhosis of the Liver in Wild Rats.
Americ. J. of Pathology, 32, (3), 633.
- Shorb, D.A. (1931)
Experimental infestation of white rats with Hepaticola hepatica.
J. Parasit., 17, 151-154.
- Shimatani, T. (1961)
Studies on the ecology of Capillaria hepatica eggs
J. of Kyoto Prefectural Medical Univ., 69, (4) 1063-1083
- Skrjabin, K.I., Shikhobalova, N.P. and Orlov, I.V. (1957)
Trichocephalidae and Capillariidae of Animals and Man and the Diseases Caused by Them
Translated from Russian
Israel Program for Scientific Translations Jerusalem 1970
- Smit, J.D. (1960)
Capillaria hepatica infestation in a dog.
Onderstepoort J. of Vet. Research, 28, (3), 473-478.
- Solomon, G.B. and Handley, C.O. (1971)
Capillaria hepatica (Bancroft, 1893) in Appalachian Mammals
J. Parasit., 57, 1142-1144.

- Soulsby, E. J. L. (1968)
Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals.
Sixth Edition of Mönning's Veterinary Helminthology and Entomology.
- Steward, J. S. (1955)
Anthelmintic studies: I. A controlled critical entero-nematodical test.
Parasitology, 45, 231-241.
- Steward, J. S. (1955a)
Anthelmintic studies: II. A double entero-nematodical test, covering a wide range of activities.
Parasitology, 45, 242-254.
- Troisier, J. e Deschiens, R. (1930)
L'hépatocoliase.
Ann. Med., 27, 414-425.
- Tromba, F. G. (1959)
Swine as potential reservoir hosts of Hepaticola hepatica.
J. Parasit., 45, 134.
- Turhan, B., Unat, E. K., Yenermen, M. e Simer, C. (1954)
Insan Karacigerinde Capillaria hepatica (Bancroft, 1893)
Travassos 1915.
Mikrobiologi Dergisi, Istanbul, 7, 149-159.
- Van der Waerden B. L. und Nievergelt, E. (1956)
Tafeln zum Vergleich zweier Stichproben mittels X-Test und Zeichentest.
Springer-Verlag, Berlin, Göttingen und Heidelberg.
- Vogel, H. (1930)
Über die Organotropie von Hepaticola hepatica.
Zeitschrift für Parasitenkunde, 2, 502-505.

Vollerthun, R. (1972)

Pathologische Untersuchungen an der Capillaria hepatica-
Infektion der Mastomys natalensis (SMITH, 1834)

Inaug. Diss., Fachbereich Vet. Med., Gießen

Waddel, A.H. (1969)

Methyridine in the treatment of experimental Capillaria
hepatica infection in the rat

Ann. of trop. Med. and Paras., 63, 63-65.

Ward, R.L. and Dent, J.H. (1959)

Capillaria hepatica infection in a child.

Bull. Tulane Univ. Med. Fac., 19, 27-33.

Weidman, F.D. (1925)

A frequent and sometimes fatal verminous Infestation of
the Liver of Rats and other Rodents.

J. Parasit., 12, 19-25.

Winfield, G.F. (1933)

Quantitative experimental studies on the rat nematode
Heterakis spumosa (Schneider, 1866).

Am. J. Hyg., 17, 168-228.

Wright, W.H. (1930)

Hepaticola sp. in the liver of dogs.

J. Parasit., 17, 54-55.

Wright, K.A. (1961)

Observations on the life cycle of Capillaria hepatica
(Bancroft, 1893) with the description of the adult.

Can. J. of Zoology, 39 (2), 167-182.

Herrn Professor Dr. G. Lämmle danke ich für die Überlassung
des Themas und die mir stets gewährte Unterstützung bei der
Durchführung der Arbeit.

Lebenslauf

Am 15. Juni 1943 wurde ich, Gerhard Bruckmann, als Sohn des Arztes Dr. Gerhard Bruckmann und seiner Ehefrau Charlotte, geb. Lohbauer, in Berlin geboren.

Ab Ostern 1949 besuchte ich die Volksschule in Bruckhausen, Kreis Dinslaken, danach ab Ostern 1954 die Realschule in Walsum, Kreis Dinslaken. Nach bestandener Prüfung der Mittleren Reife wechselte ich an das math. naturwissenschaftliche Gymnasium Dinslaken, wo ich am 20. Februar 1964 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1964 und Wintersemester 1964/65 studierte ich Biologie und Anglistik an der Universität in Münster. Zum Sommersemester 1965 immatrikulierte ich mich zum Studium der Veterinärmedizin an der Justus Liebig-Universität Gießen.

Die Tierärztliche Prüfung schloß ich am 18. Dezember 1970 ab und erhielt am 23. Dezember 1970 die Bestallung als Tierarzt.

Nach der Approbation war ich als Vertreter in der Tierärztlichen Praxis tätig.

In der Zeit vom 15. März 1971 bis zum 30. Juni 1971 war ich als wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Parasitologie und Parasitäre Krankheiten der Tiere der Justus Liebig-Universität angestellt. Seit dem 1. Januar 1972 arbeite ich als wissenschaftlicher Angestellter an dem oben genannten Institut.

